INDICATOR
DE REACTIVI
PENTRU
ANALIZE MEDICALE

Scanned with OKEN Scanner

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII ȘI PREVEDERILOR SOCIALE
DIRECȚIA GENERALĂ FARMACEUTICĂ

INDICATOR DE REACTIVI PENTRU ANALIZE MEDICALE

EDITURA MEDICALĂ
— BUCUREȘTI, 1964 —

Scanned with OKEN Scanner

Sub redacţia

Dr. AL. THEODORESCU, RADU CANCER

Autori

Dr. **ION AMBRUŞ**; dr. **ILIE COSMULESCU**; farm. **ONORIU ILIESCU**; dr. **ANA MIHĂILESCU**; dr. **PAUL STĂNCIULESCU**; dr. **AL. THEODORESCU**; dr. **MIHAI TOŞU**; farm. **MARIA VOICU-OMĂT.**

Revizia ştiinţifică

Dr. **ŞTEFAN BĂLAN**

LUCRARE APĂRUTĂ SUB ÎNGRIJIREA OFICIULUI CENTRAL FARMACEUTIC

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

CUVÎNT ÎNAINTE

Această lucrare — inițiată de Ministerul Sănătății și Prevederilor Sociale, Direcția generală farmaceutică — are drept scop să pună la îndemîna unităților sanitare din sistema Ministerului Sănătății și Prevederilor Sociale elementele necesare pentru planificarea aprovizionării cu reactivii care se utilizează în analizele medicale, potrivit cerințelor impuse de progresul înregistrat în domeniul științelor medicale și al biochimiei.

Colectivul de redactare a îndreptarului a căutat, prin trecerea în revistă și verificarea la masa de lucru a metodelor cunoscute din literatură, să prezinte cele mai uzitate procedee tehnice de laborator, la nivelul actual al cunoștințelor medicale de specialitate.

Verificarea metodelor de analiză a fost făcută atît în scopul prezentării celor mai bune metode de lucru, cît mai ales spre a stabili, mai aproape de realitate, cantitățile de reactivi necesare pentru efectuarea analizelor, în funcție de metodele folosite.

În unele cazuri s-a considerat util să se prevadă reactivii necesari în cantități ceva mai mari decît cele rezultate din calcul, întrucît depozitarea (păstrarea) și manipularea unor reactivi, mai mult sau mai puțin labili, ocazionează pierderi cantitative în mod natural, în condiții normale de lucru.

Lucrarea se adresează în primul rînd specialiștilor chemați să stabilească cantitativ nevoile de reactivi, care să asigure desfășurarea în bune condițiuni a activității de laborator și folosirea judicioasă a posibilităților materiale și bănești care sînt puse la dispoziție unităților sanitare. Procedeele tehnice descrise nu cuprind interpretările, cauzele care pot provoca unele erori sau alte elemente care sînt cunoscute și se găsesc cu ușurință în lucrările de specialitate.

În afară de redarea unor metode sau procedee tehnice, îndreptarul mai cuprinde „Indicatorul unor formule și Indexul alfabetic de reactivi care se folosesc în analizele medicale". Aceste capitole le considerăm utile — în egală măsură — atît pentru personalul de specialitate care

lucrează la masa de lucru, cît şi pentru medicul care, în munca de planificare a reactivilor, se va putea orienta cu mai multă uşurinţă în stabilirea nomenclatorului şi a cantităţilor necesare.

Fără îndoială că, în lumina scopului propus, conţinutul primei ediţii a acestui îndreptar — ca orice primă încercare de acest fel — este susceptibil de îmbunătăţire.

Sîntem convinşi că specialiştii, cărora le este destinată lucrarea — „Indicator de reactivi pentru analize medicale" — îşi vor aduce contribuţia lor competentă la viitoarea ediţie a acestei lucrări.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL I

PLANIFICAREA APROVIZIONĂRII LABORATOARELOR DE ANALIZE MEDICALE CU REACTIVI

Scanned with OKEN Scanner

PLANIFICAREA APROVIZIONĂRII LABORATOARELOR DE ANALIZE MEDICALE CU REACTIVI

Importantele realizări obținute în ultimii ani pe tărîm economic și social reprezintă o strălucită confirmare a justeței politicii dusă de Partidul Muncitoresc Romîn în munca de desăvîrșire a construcției socialismului.

An de an s-au prevăzut sume din ce în ce mai importante în bugetul statului pentru ocrotirea sănătății.

Folosirea judicioasă a mijloacelor bănești și materiale puse la dispoziție pentru ocrotirea sănătății constituie una dintre obligațiile principale care revin unităților sanitare.

O importanță deosebită trebuie să fie acordată și modului în care se aprovizionează laboratoarele unităților sanitare din sistema Ministerului Sănătății și Prevederilor Sociale cu reactivii necesari efectuării analizelor medicale.

Și în acest domeniu de activitate trebuie să se respecte principiile generale de planificare, proprii economiei socialiste.

Pentru a se preveni risipa de mijloace bănești și materiale trebuie să se asigure o perfectă concordanță între nevoile de reactivi și acoperirea acestor nevoi.

În acest scop se impune ca unitățile sanitare să-și întocmească o balanță materială pentru fundamentarea planului de aprovizionare.

Această balanță cuprinde, pe de o parte, *necesarul,* iar pe de alta, *sursele de acoperire.*

Cele două componente ale balanței materiale — necesar și surse — trebuie să fie egale.

Nu trebuie să se neglijeze faptul că necesarul cuprinde, atît cantitățile necesare consumului (necesar pentru consum), cît și cele necesare constituirii rezervelor, care au drept scop să asigure continuitatea activității laboratorului între două aprovizionări consecutive (necesar pentru stocul normat).

Durata de reaprovizionare, natura reactivului și mărimea ambalajului sînt elementele care determină structura și volumul rezervelor normate.

Acoperirea nevoilor (necesarul pentru consum și pentru constituirea stocurilor de rezervă) se realizează, fie din stocurile proprii reportabile, fie prin comenzi care se înaintează oficiului farmaceutic.

Scanned with OKEN Scanner

Posibilităţile de acoperire a nevoilor pentru anul următor, din stocurile proprii reportabile, nu trebuie neglijate.

Pentru estimarea acestor posibilităţi trebuie să se ţină seama de cantităţile de reactivi care vor exista în stoc la sfîrşitul anului premergător aceluia pentru care se fac calculele.

Elementele care trebuie luate în considerare la stabilirea stocurilor proprii reportabile sînt următoarele :

— stocurile efective existente la data efectuării calculului ;

— cantităţile de reactivi care urmează a fi primite pînă la sfîrşitul anului curent, conform contractului încheiat cu oficiul farmaceutic ;

— consumul probabil de la data efectuării calculului şi pînă la sfîrşitul anului.

Stocul reportabil de la sfîrşitul anului este deci egal cu stocul iniţial plus aprovizionarea pînă la 31 decembrie a.c. minus consumul estimat pentru aceeaşi perioadă.

Stocul reportabil astfel determinat reprezintă prima sursă de acoperire a necesarului pentru anul următor.

Pentru cantităţile care nu se acoperă din stocul reportabil se întocmesc cereri către oficiul farmaceutic — cea de a două sursă de acoperire a necesarului unităţii sanitare.

Pot apărea însă situaţii în care cantităţile care vor exista în stocurile reportabile ale unităţii sanitare să depăşească necesarul total pentru anul de plan (anul următor).

Aceste cantităţi se consideră stocuri excedentare în măsura în care sînt ambalate în flacoane originale, nedesfăcute şi sînt, organoleptic, corespunzătoare din punct de vedere calitativ.

Stocurile excedentare se comunică oficiului farmaceutic în vederea luării unor eventuale măsuri de redistribuiri regionale sau interregionale.

Pentru stabilirea cît mai aproape de realitate a nevoilor se poate întocmi, consultînd acest îndreptar, nomenclatorul reactivilor specifici activităţii fiecărui laborator.

Structura acestui nomenclator este determinată de unele elemente, ca de pildă :

— analizele care se execută sau se propun a se executa ;

— metodele de lucru sau procedeele tehnice utilizate ;

— aparatura existentă în unitate ;

— cadrele de specialitate.

Cantităţile necesare pentru un an, din fiecare reactiv prevăzut în nomenclatorul stabilit, se determină în funcţie de numărul de analize înscris în registrul de evidenţă al analizelor efectuate, posibilităţile de creştere a activităţii, estimate pe baza datelor statistice şi indicatorilor de plan (creşterea numărului de consultaţii, a numărului de internări, creşterea productivităţii muncii şi a numărului de analize etc.).

Numărul de analize astfel stabilit, întregit la o sută pentru uşurinţa calculelor, se înmulţeşte cu cantitatea prevăzută în îndreptar în dreptul fiecărui reactiv şi se împarte la o sută, întrucît consumul specific este calculat în îndreptar pentru o sută de determinări. *)

---

*) *Notă :* Cîteva din totalul analizelor prevăzute în îndreptar sînt calculate pentru 1 000 de determinări.

Scanned with OKEN Scanner

Astfel :

— Numărul de analize înscris în registrul de evidenţă . . 715
— Creşterea apreciată din analiza datelor statistice, a numărului de analize etc. 200
— Totalul analizelor propuse a se executa 915
— Numărul de analize rotunjit 1 000
— Consumul specific pentru o sută de determinări . . . 50
— Cantitatea necesară pentru un an :

$$\frac{50 \text{ g} \times 1\,000}{100} = 500 \text{ g}$$

Cantităţile din reactivii comuni mai multor reacţii, stabiliţi în acelaşi mod, se vor aduna, suma obţinută reprezentînd necesarul, din acel reactiv, destinat consumului.

În funcţie de cantitatea necesară pentru consum, se poate stabili necesarul pentru constituirea stocului normat astfel :

$$\text{Stoc normat} = \frac{\text{Necesar pt. consum} \times \text{număr de zile propus pt. constituirea rezervelor}}{360 \text{ (număr de zile dintr-un an)}} = \frac{500 \text{ g} \times 180}{360} = 250 \text{ g}$$

În ceea ce priveşte numărul de zile propus pentru constituirea rezervelor normate — acesta este indicat pentru fiecare an de plan prin instrucţiunile Ministerului Sănătăţii şi Prevederilor Sociale, Direcţia generală farmaceutică.

Necesarul total se stabileşte prin însumarea cantităţilor destinate consumului şi a celor destinate constituirii rezervelor normate.

Necesarul total, astfel stabilit, se acoperă din cele două surse, stocurile proprii reportabile şi aprovizionarea propriu-zisă.

În această privinţă pot exista următoarele ipoteze :

— necesarul total se acoperă în întregime din stocurile proprii reportabile ;

— necesarul total se acoperă în întregime din stocurile proprii reportabile, rămînînd şi cantităţi excedentare, care se comunică oficiului farmaceutic pentru redistribuire ;

— necesarul total se acoperă parţial din stocurile proprii reportabile, iar pentru diferenţe se înaintează cereri la oficiul farmaceutic.

Întocmirea şi înaintarea acestor cereri către oficiile farmaceutice se face de către unităţile sanitare din sistema Ministerului Sănătăţii şi Prevederilor Sociale la termenele stabilite prin instrucţiuni anuale de planificare.

Menţionăm că din sistema Ministerului Sănătăţii şi Prevederilor Sociale fac parte, atît unităţile de interes general subordonate direct Ministerului Sănătăţii şi Prevederilor Sociale, cît şi unităţile sanitare şi de prevederi sociale ale Sfaturilor populare.

Scanned with OKEN Scanner

Oficiile farmaceutice regionale și al Capitalei sînt singurele verigi de planificare și executare a aprovizionării cu reactivi pentru unitățile sanitare și de prevederi sociale, situate în raza lor teritorială de activitate.

După primirea din partea unităților sanitare a tuturor cererilor, acesta le centralizează și le înaintează Ministerului Sănătății și Prevederilor Sociale.

De modul în care unitatea sanitară întocmește calculele estimative cu caracter previzional depinde evitarea golurilor în aprovizionarea cu reactivi precum și prevenirea formării de stocuri supranormative.

Respectînd principiile generale de planificare a aprovizionării tehnico-materiale precum și elementele de calcul pe care le pune la dispoziție acest îndreptar, sîntem convinși că specialiștii cărora le revine sarcina să întocmească planurile de aprovizionare cu reactivi pot contribui la continua îmbunătățire a activității laboratoarelor.

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL al II-lea

EXAMENE BIOCHIMICE

Scanned with OKEN Scanner

EXAMENE BIOCHIMICE

I. EXAMENE DE URINĂ . . . . . Pag.

A. *Examenul fizic al urinii* 21
1. Determinarea volumului 21
2. Aprecierea aspectului şi culorii 21
3. Densitatea 21
4. Crioscopia 21

B. *Examenul chimic al urinii* 21
1. *Reacţia* (pH) 22
2. *Aciditatea totală* 22
3. *Alcalinitatea totală* 22
4. *Cercetarea proteinuriei* 23
a) Reacţii calitative 23
— Reacţia cu acid acetic la cald 23
— Reacţia cu acid sulfosalicilic 24
b) Dozarea proteinelor urinare 25
— Metoda Esbach 25
5. *Cercetarea glicozuriei* 25
a) Reacţii calitative 25
— Reacţia Fehling 25
— Reacţia Benedict 26
b) Dozarea glicozuriei 27
— Metoda Ionescu-Matiu 27
— Metoda Fehling 28
— Metoda Denigès 28
6. *Cercetarea altor glucide* 28
— Reacţia Rubner pentru cercetarea lactozei în urină 28
— Reacţia Seliwanoff pentru cercetarea levulozei în urină 28

Pag.

7. *Cercetarea corpilor cetonici (calitativă)* 29
— Reacţia Legal 29
8. *Cercetarea acidului diacetic (calitativă)* 29
— Reacţia Gerhard 29
9. *Cercetarea amoniacului total şi aminic* 29
— Metoda Sörensen—Ronchèse 29
10. *Cercetarea nitriţilor* 30
— Reacţia Griess 30
11. *Dozarea ureei urinare* 31
— Metoda Kowarski 31
12. *Dozarea acidului uric* 31
13. *Dozarea creatininei* 32
14. *Cercetarea pigmenţilor biliari şi a derivaţilor lor* . . 32
a) Determinarea calitativă a pigmenţilor biliari . . . 32
— Metoda Gmelin (pigmenţi biliari) 32
— Reacţia cu tinctura de iod Gilbert Marchal-Rosin . 33
— Metoda Fouchet (bilirubină) 33
b) Urobilinogen 34
— Metoda Ehrlich 34
c) Urobilina 34
— Metoda Schlesinger 34
d) Determinarea calitativă a sărurilor biliare . . . 35
— Reacţia Hay 35
15. *Determinarea calitativă a prezenţei sîngelui* 35
— Reacţia Adler 35
16. *Determinarea ionilor şi sărurilor anorganice* . . . 35
— Dozarea clorurilor 35
— Dozarea fosforului mineral 36
— Dozarea calciului 37
— Dozarea sodiului 37
— Dozarea potasiului 38
17. *Cercetarea hormonilor suprarenali* 38
— Dozarea 17-cetosteroizilor 38
18. *Cercetarea fermenţilor pancreatici* 39
— Determinarea amilazuriei 39
C. *Examene morfologice ale sedimentului urinar* 40

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

a) Determinarea calitativă 40
b) Determinarea cantitativă 40

II. **EXAMENE DE SÎNGE** 40

1. *Teste de disproteinemie* 40
a) *Dozarea proteinelor cu raportul albumine/globuline : metoda gravimetrică* 40
b) *Dozarea fotometrică* (Weichselbaum) 41
c) *Dozarea fibrinogenului* (Metoda gravimetrică) . . . 42
d) *Proteinograma.* Metoda electroforetică pe hîrtie . . 42
— Timpul I : migrarea şi separarea fracţiunilor . . 43
— Timpul al II-lea : fixarea şi colorarea spoturilor . 43
— Timpul al III-lea : evaluarea cantitativă a diferitelor fracţiuni 44
e) *Testul apei bidistilate* 45
f) *Testul cu timol* Mac Lagan 46
g) *Reacţia Gross* 47
h) *Reacţia Takata-Ara* 47
— Metoda în 8 eprubete 47
— Metoda fotometrică 48
i) *Testul Wunderly-Wuhrmann* cu sulfat de cadmiu . . 49
j) *Testul Kunkel* cu sulfat de zinc 49
k) *Testul Kunkel* cu sulfat de cupru 50
l) *Testul Gaté-Papacostas, Kürten de formol gelificare* . 50
m) *Testele Kunkel* 50
n) *Banda de coagulare Weltmann* 51
o) *Viteza de sedimentare a eritrocitelor* (Westergreen) . 52

2. *Dozarea ureei* 52
3. *Dozarea acidului uric* 53
4. *Dozarea creatininei* 54
5. *Dozarea glicemiei* 55
a) Metoda Denigès modificată de Alin-Popescu . . . 55
b) Metoda Hagedorn-Jensen 57
c) Metoda colorimetrică Folin-Wu 59

6. *Dozarea colesterolului* 60
a) Dozarea colesterolului total 60
b) Dozarea colesterolului extras 61
c) Dozarea colesterolului esterificat 61

7. *Dozarea bilirubinei* 62
a) Dozarea bilirubinei directe (metoda fotometrică) . . 62

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

b) Dozarea bilirubinei totale (metoda fotometrică) . . 63
c) Metoda colorimetrică (Hyjmans van den Berg) . . 64

8. *Dozarea clorului plasmatic* 64
a) Metoda Volhard—Laudat 64
b) Metoda Mohr 65

9. *Dozarea clorului globular* 66
10. *Dozarea fosforului mineral* 67
11. *Dozarea calciului* 68
a) Metoda titrimetrică Kramer şi Tisdall 68
b) Metoda la fotometrul cu flacără 69

12. *Dozarea sodiului* 70
— Metoda la fotometrul cu flacără 70
13. *Dozarea potasiului* 71
— Metoda la fotometrul cu flacără 71

14. *Determinarea rezervei alcaline* 72
15. *Determinări de activităţi enzimatice în ser* 72
a) Determinarea activităţii amilazice. Metoda Wohlgemuth 72
b) Fosfataza alcalină 73
c) Fosfataza acidă 74
d) Transaminazele serice 75
— Determinarea activităţii transaminazei oxalacetice G.O.T. 75
— Determinarea activităţii transaminazei piruvice G.P.T. 76
e) Aldolaza serică 76
f) Pseudocolinesteraza serică 78

III. **PROBE FUNCŢIONALE** 78

1. Proba hiperglicemiei provocate — metoda Duncan . . 78
2. Proba cu roşu de Congo pentru decelarea degenerescenţei amiloide — Bennhold 79
3. Proba galactozuriei provocate 79
4. Proba cu bromsulfonftaleină (B.S.P.) 80
5. Proba hiperhipuricuriei provocate (Quick) 80
6. Proba de diluţie şi concentrare urinară 81
7. Determinarea coeficientului de epurație ureică (Van Slyke) 82
8. *Clearance*-ul creatininei endogene 83
9. Proba cu fenolsulfonftaleină P.S.P. 83

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

IV. EXAMENELE DE LICHID CEFALORAHIDIAN 84

Examenul fizic 84
Examenul chimic 84

A. *Cercetarea proteinelor* 84

1. Reacţii pentru decelarea hiperglobulinorahiilor . . . 85
a) Reacţia Pandy 85
b) Reacţia Nonne-Appelt 85
c) Reacţia cu benzoe coloidală Guillain-Lechelle . . . 86
2. Dozarea proteinelor 86
a) Metoda Heller 86
b) Metoda Sicard şi Cantaloube 87

B. *Cercetarea altor constante biochimice* 87

1. Dozarea clorurilor 87
— Metoda Volhard-Laudat 87
2. Determinarea glucozei (glicorahia) 89
a) Reacţia orientatorie Haine 89
b) Dozarea glicorahiei 89
— Micrometoda Hagedorn-Jensen 90
— Metoda colorimetrică Folin-Wu 90
3. Dozarea ureei 90
4. Reacţia triptofanului Voisinet 91

C. *Examenul sedimentului* 91

V. EXAMENELE DE SUC GASTRIC 91

1. *Recoltarea sucului gastric* 91
2. *Examenul fizic* 92
3. *Examenul chimic* 92
a) Examenul aciditǎţilor 92
b) Determinarea acidului lactic 93
c) Cercetarea sîngelui 94

VI. EXAMENELE CONŢINUTULUI DUODENAL 94

1. *Recoltarea conţinutului duodenal* 94
2. *Examenul bilei* 94
3. *Examenul sucului pancreatic (fermenţi)* 95
a) Determinarea activităţii amilazice 95
b) Determinarea activităţii lipazelor 95
c) Determinarea activităţii tripsinei 96

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

VII. **EXAMENELE MATERIILOR FECAL** 96

1. *Examenul fizic* 96
2. *Examenul chimic* 96
   a) Reacţia 96
   b) Cercetarea pigmenţilor biliari : reacţia cu sublimat Schmidt 97
   c) Cercetarea proteinelor 97
   d) Cercetarea sîngelui 98
3. *Examenul microscopic* 98

VIII. **EXAMENELE CALCULILOR** 99

1. Examenul calculilor urinari 99
2. Examenul calculilor biliari 100

IX. **EXAMENUL LAPTELUI MATERN** 100

1. *Recoltarea laptelui matern* 100
2. *Identificarea laptelui uman* 100
3. *Examene fizice şi biochimice* 101
   a) Densitatea 101
   b) Reziduul 101
   c) Reacţia 101
   d) Aciditatea totală 101
   e) Dozarea grăsimilor 101
   f) Dozarea lactozei 102
   g) Dozarea proteinelor 103

Scanned with OKEN Scanner

I. EXAMENE DE URINĂ

Examenele de urină pot fi calitative sau cantitative. Aceste examene se execută pe urina eliminată în 24 de ore, corect recoltată, în afară de cazurile cînd interesează eliminările parţiale.

Examenele de sediment se execută pe urină proaspătă, cît mai aproape de eliminare.

A. EXAMENUL FIZIC AL URINII

Acest examen comportă :

1. *Determinarea volumului,* care se măsoară cu cilindrul sau paharul conic, gradate.

2. *Aprecierea aspectului şi culorii* — limpede, tulbure, cu sediment, cu corpuri în suspensie — şi a *culorii* — palidă, citrină, portocalie, brună, verzuie, sanguinolentă etc. Aceste examene nu cer reactivi speciali.

3. *Densitatea* se măsoară cu un aparat special, urodensimetrul, fără alţi reactivi. În urina din 24 de ore, la un regim alimentar mixt, complet, echilibrat ea variază între 1,012 şi 1,030 ; în diferitele porţiuni, emise în 24 de ore, ea poate varia la normal între 1,003 şi 1,040.

4. *Crioscopia* se execută cu un aparat special, crioscopul. Acesta este compus dintr-un rezervor în care se pune un amestec refrigerent (compus din gheaţă 3 părţi şi sare de bucătărie 1 parte), o eprubetă în care se pune urina de analizat şi un termometru special Beckmann cu gradele de temperatură divizate în 100 de diviziuni. Punctul de îngheţare a urinii este în legătură cu concentraţia molară a urinii (cu cît numărul de molecule dizolvate va fi mai mare, cu atît şi punctul crioscopic va fi mai scăzut). Punctul crioscopic variază între —1° şi —2°,5.

Amestecul refrigerent :

Gheaţă	1 kg
Sare de bucătărie	300 g

Scanned with OKEN Scanner

B. EXAMENUL CHIMIC AL URINII

1. RACȚIA (pH)

Reacția (pH) se apreciază cu hîrtie indicator, de obicei hîrtia neutră de turnesol. Urina normală are o reacție acidă. Pentru o determinare mai exactă, reacția se poate aprecia cu hîrtia indicator universal sau cu o hîrtie indicator cu o scară de pH și mai restrînsă. Rezultatul se dă în pH.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 20 040 *Papier lackmus neutrale* . . . . . 50 de benzi

sau

Cod 21 190 *Papier universal Indikator pH 0-12* . . 50 de benzi

2. ACIDITATEA TOTALĂ

Reactivi : hidroxid de sodiu N/10 ; acid clorhidric N/10 ; carbonat de sodiu soluție N/10 ; soluție alcoolică 1% fenolftaleină.

Prepararea soluțiilor

Acid clorhidric N/10 (3,646 5 g‰)

Se cîntăresc 15 g dintr-o soluție de acid clorhidric 25% și se duc la balon cotat la 1 000 ml cu apă bidistilată. Titrul se stabilește cu o soluție N/10 de carbonat de sodiu, avînd ca indicator soluția de metil-oranj.

Hidroxid de sodiu N/10 (4,000 5 g‰)

Cantitatea de 4,5 g de hidroxid de sodiu, spălat cu alcool, necarbonatat se dizolvă în 1 000 ml apă distilată, la balon cotat. Se titrează cu o soluție N/10 de acid clorhidric, avînd ca indicator o soluție 0,1 g‰ metil-oranj în alcool.

Carbonat de sodiu soluție N/10

Se cîntăresc 5,298 g de carbonat purificat și uscat, ținut în prealabil, 2 ore, înainte de cîntărire la 270—300° și apoi păstrat la exsicator pe acid sulfuric și se dizolvă la balon cotat la 1 000 ml cu apă bidistilată. Titrul acestei soluții se păstrează timp îndelungat, soluția fiind una din soluțiile de referință pentru titrarea soluțiilor normale.

Tehnică. Într-un pahar Erlenmeyer de 100 ml se pun 10 ml urină filtrată, se adaugă 10—15 ml apă distilată și 2—3 picături din indicator. Cu urinile normale, acide, amestecul nu-și schimbă culoarea. Se titrează cu soluția de hidrat de sodiu pînă la apariția coloratiei roz persistente.

Rezultate. Numărul de mililitri de hidroxid de sodiu întrebuințat se înmulțește cu 100, rezultînd aciditatea la litru. Din acest număr și din volumul urinar se calculează aciditatea în 24 de ore.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 2 334 +) *Alcohol aethylicus* 90° pt. a. . . . . 15 ml
Cod 18 504 *Natrium hydricum* N/10 . . . . . 500 ml
Cod 20 482 *Phenolphtaleinum* . . . . . 0,15 g

Scanned with OKEN Scanner

În caz cînd soluția de hidroxid se prepară din substanțe în laborator:

Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . . .	2,5 g
Cod 932	*Acidum hydrochloricum* 25% D-1 1,24—1,26 p. a.	180 g
Cod 11 843 B	*Natrium carbonicum anhydricum* p. a.	6 g
Cod 20 370	*Orange III*	0,01 g
Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	10 ml
	sau	
Cod 18 034	*Acidum hydrochloricum* N/10 . . .	100 ml
	sau	
Cod 18 474	*Natrium carbonicum* N/10	100 ml

3. ALCALINITATEA TOTALĂ

Reactivi : soluție de acid clorhidric N/10 ; soluție alcoolică de fenolftaleină 1% la 100 ml alcool 96°.

Tehnică. Aceeași ca mai sus. Amestecul se colorează în roz ; titrarea se face cu soluția de acid clorhidric N/10, pînă la dispariția coloratiei.

Rezultate. Calculul se efectuează ca și în cazul dozării acidității.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	15 ml
Cod 18 034	*Acidum hydrochloricum* N/10	500 ml
Cod 20 482	*Phenolphtaleinum*	0,15 g

4. CERCETAREA PROTEINURIEI

a) *Reacții calitative*

Reacția cu acid acetic la cald

Reactivi : hîrtie neutră sau albastră de turnesol ; acid acetic, soluție 10 ml % ; clorură de sodiu.

Tehnică. Se pun 15—20 ml de urină filtrată sau centrifugată într-o eprubetă. Se încearcă reacția. Dacă este alcalină se adaugă 2—3—4 picături din soluția de acid acetic, pînă la reacție slab acidă. Se încălzește partea de sus a eprubetei la flacără pînă la fierbere, ținînd eprubeta de partea de jos și cît mai aproape de orizontală. După ce a dat în clocot, se retrage eprubeta din flacără și se observă locul unde s-a încălzit urina, în comparație cu restul urinii rămas rece.

Se disting două cazuri :

— urina nu-și schimbă transparența ;

— se tulbură.

Scanned with OKEN Scanner

Se picură în urina caldă 2—3 picături din soluția de acid acetic 10% și se încălzește din nou.

Dacă urina nu se tulbură, nu conține proteine. Dacă apare o tulbureală, ea se datorește prezenței albuminelor și este notată, după intensitate, prin calificativele : urme extrem de fine, urme fine, urme pronunțate, sau dacă se produc flocoane de coagulat, albumină dozabilă.

În cazul urinii tulburi după încălzire, după adaosul de soluție de acid acetic turbiditatea poate să dispară complet, urina limpezindu-se acolo unde a picat acidul. În acest caz urina nu conține proteine, turbiditatea datorindu-se precipitării de carbonați, dacă dispariția sa după adăugarea de acid acetic este însoțită de producție de gaze, prin dezvoltarea bioxidului de carbon. Dacă dispariția turbidității se produce fără gaze, turbiditatea este datorită fosfaților alcalinoteroși. Dacă însă urina, în mediu acid, rămîne tulbure sau se tulbură și mai mult, ea conține proteine.

Unele urini foarte sărace în săruri, deși conțin proteine, nu dau reacția, care cere pentru dezvoltare și o anumită concentrație salină. Acestea au o densitate foarte mică 1,002—1,005. La aceste urini trebuie adăugat, înainte de a executa reacția cu acid acetic la cald, un vîrf de cuțit de clorură de sodiu, la 15—20 ml de urină, după care se agită pentru a se dizolva.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	50 ml
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	10 g
Cod 21 040	*Papier lackmus neutrale*	50 de benzi

Reacția cu acid sulfosalicilic

Reactivi : soluție 20% acid sulfosalicilic.

Tehnică. În două eprubete se pun cîte 8—10 ml urină filtrată sau centrifugată ; într-una dintre eprubete se picură 4—5 picături din soluția de acid sulfosalicilic. Se compară aspectul cu martorul. Urina normală nu-și schimbă aspectul. În urina care conține proteine apare o ușoară turbiditate, o turbiditate mai intensă sau chiar un precipitat, în funcție de cantitatea de proteine. Rezultatul se exprimă prin calificativele : urme extrem de fine, urme fine, urme pronunțate sau, în cazul precipitatului, proteine dozabile.

Dacă turbiditatea dispare la încălzire și reapare la rece, urina conține albumoze.

Reacția se poate efectua și pe cantități mai mici de urină : 1-2-3 ml. În acest caz se întrebuințează eprubeta de hemoliză.

Urina normală nu conține proteine.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 507 *Acidum sulfosalycilicum* p. a. . . . . 8 g

b) *Dozarea proteinelor urinare*

Metoda Esbach

Reactivi : reactivul picrocitric Esbach.

Prepararea reactivului Esbach

Acid picric	10 g
Acid citric	20 g
Apă distilată	900 ml

Dizolvarea se face la cald. Se răcește și se adaugă apă distilată pînă la 1 000 ml.

Tehnică. Într-un albuminometru Esbach se pune urină filtrată pînă la marca U, se adaugă apoi reactivul picrocitric pînă la marca R. Se astupă albuminometrul cu dopul de cauciuc și se agită bine. Se așază vertical în cutie. Se citește după 24 de ore gradația la care a ajuns marginea superioară a precipitatului. Citirea reprezintă cantitatea de proteine în grame la litrul de urină.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 688 *Acidum citricum* pt. a. . . . . 40 g
Cod 1 397 *Acidum picricum* p. a. . . . . 20 g

5. CERCETAREA GLICOZURIEI

a) *Reacții calitative*

Reacția Fehling

Reactivi : Soluția Fehling I ; Soluția Fehling II.

Prepararea soluțiilor

Soluția Fehling I :

Sulfat de cupru	35 g
Apă distilată	700 ml
Acid sulfuric concentrat	5 ml

Se completează la balon cotat cu apă distilată pînă la 1 litru.

Soluția Fehling II :

Tartrat dublu de sodiu și potasiu (Sare Seignette)	150 g
Soluție de hidroxid de sodiu 30%	300 ml

Se completează la balon cotat cu apă distilată pînă la 1 litru.

Înainte de întrebuințare, reactivul Fehling se prepară amestecînd în părți egale soluția I și II. Amestecul, dacă se învechește, se poate reduce de la sine. De aceea, nu se prepară decît o cantitate de amestec necesară pentru 3—4 zile, iar înainte de efectuarea reacțiilor, se încălzesc la fierbere 2—3 ml într-o eprubetă, spre a controla dacă nu se reduce doar la simpla încălzire.

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică. Se pun 2—3 ml reactiv Fehling într-o eprubetă şi o cantitate egală, 2—3 ml, de urină filtrată. Se încălzeşte la flacără şi se fierbe 1—2 minute.

Rezultate. Dacă urina nu conţine glucoză, culoarea albastră-închisă a reactivului nu se schimbă. Dacă urina nu conţine glucoză, dar conţine alţi corpi reductori, aspectul rămîne limpede, dar culoarea se schimbă în brun-verzui. În acest caz reacţia se repetă după defecarea urinii.

Dacă urina conţine glucoză, atunci reactivul se tulbură şi îşi schimbă culoarea în verde, apoi galben şi la urmă roşu-cărămiziu, după cantitatea mai mică sau mai mare de glucoză. În glicozuriile mari se depune la fundul eprubetei un precipitat roşu-cărămiziu de suboxid de cupru, lichidul de deasupra decolorîndu-se.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	1,5 g
Cod 6 030 +)	*Cuprum sulfuricum oxydatum* p. a. . .	8 g
Cod 9 732 +)	*Kalium natrium tartaricum* pt. a. . .	40 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	25 g

Defecarea urinii.

Reactivi : Reactivul Courtonne.

Prepararea reactivului. Se dizolvă acetat neutru de plumb 300 g în apă distilată necesară, 600—700 ml. Soluţia are o reacţie bazică.

Se adaugă acid acetic glacial, picătură cu picătură, pînă ce reacţia devine neutră la hîrtia de turnesol. Se filtrează şi se completează cu apă distilată pînă la 1 litru.

Tehnica defecării. Într-o eprubetă se pun 9 ml de urină şi 1 ml de reactiv. Se filtrează. Dacă primele porţiuni trec tulbure într-o altă eprubetă curată se filtrează din nou prin acelaşi filtru.

Reactivi necesari (pentru 100 de defecări)

Cod 139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	50 ml
Cod 14 146 +)	*Plumbum aceticum* pt. a.	40 g
Cod 21 040	*Papier lackmus neutrale*	5 benzi

Reacţia Benedict

Reactivi : Reactivul Benedict.

Prepararea reactivului. Se dizolvă la cald 173 g citrat de sodiu în 600 ml apă distilată şi apoi se adaugă 100 g carbonat de sodiu cristalizat. Se agită pînă se dizolvă complet şi apoi se filtrează într-un cilindru de 1 000 ml. Se dizolvă separat, la cald, 17,3 g sulfat de cupru, iar soluţia se varsă în cilindru, peste soluţia citro-carbonatată, agitînd continuu cu o baghetă de sticlă. După răcire, se completează pînă la 1 000 ml cu apă distilată.

Tehnică. Într-o eprubetă se măsoară exact 5 ml de reactiv, peste care se adaugă 5 picături de urină. Eprubeta se cufundă într-un vas cu apă care fierbe, în care se ţine 3 minute. După acest timp, eprubetele se scot din baie şi se citeşte rezultatul.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultate. Dacă urina nu conţine glucoză, culoarea albastră-închisă a reactivului şi transparenţa sa nu se schimbă. Dacă urina conţine glucoză, atunci reactivul se tulbură, se înverzeşte, se îngălbeneşte şi se înroşeşte succesiv, după cantitatea mai mică sau mai mare de glucoză pe care o conţine urina. Cînd urinile conţin în cantitate mai mare anumite componente normale, care au şi proprietăţi reducătoare asupra sulfatului de cupru (acid uric, creatinină etc.), atunci reactivul îşi schimbă culoarea în verde-închis, ca sticla, dar nu se tulbură.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 6 030 +) *Cuprum sulfuricum oxidatum* pt. a. . 10 g
Cod 11 840 +) *Natrium carbonicum cryst.* pt. a. . . . 60 g
Cod 11 900 +) *Natrium citricum tribasicum* chimic pur . . . . . 100 g

b) *Dozarea glicozuriei*

Metoda Ionescu-Matiu

Reactivi : fericianură de potasiu soluţie 4,6% ; acid picric soluţie 1,2% (soluţie saturată) ; reactiv Courtonne ; glucoză soluţie 0,5%.

Prepararea soluţiilor

Soluţie fericianură de potasiu
Soluţie fericianură de potasiu 46 g
Hidroxid de sodiu 46 g
Apă bidistilată pînă la 1 000 ml, în balon cotat.
Soluţia trebuie titrată cu o soluţie cunoscută de glucoză.

Soluţia saturată de acid picric se prepară dizolvînd la cald 1,2 g acid la 100 ml apă bidistilată.

Soluţia glucoză 0,5% se prepară cu apă bidistilată, la balon cotat, după ce glucoza a stat la etuvă la 105° pînă la greutate constantă. Se păstrează la frigider 10—15 zile.

Tehnică. Într-un pahar Erlenmeyer se pun 10 ml din soluţia de fericianură cu titru cunoscut în glucoză, 10 picături soluţie acid picric şi 20 ml de apă distilată. Se încălzeşte pînă la fierbere, apoi se adaugă, picătură cu picătură, din urina defecată cu reactivul Courtonne, fierberea menţinîndu-se tot timpul. În momentul cînd toată fericianura a fost redusă, apare culoarea roşie, intrînd în reacţie acidul picric. Se citeşte numărul de mililitri de urină defecată întrebuinţată.

Rezultate. Calculul se face după formula :

$$\frac{\text{Titrul în glucoză al soluţiei de fericianură} \times 1\,000}{\text{Numărul de mililitri urină întrebuinţaţi}} = \text{grame de glucoză la litru.}$$

Urina fiind defecată, deci diluată cu o parte de reactiv Courtonne, se mai adaugă la rezultatul final încă 1/10 din cifra obţinută.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 397	*Acidum picricum* p. a.	1,5 g
Cod 8 094	*Glucose anhydricum* p. a.	1 g
Cod 9 639	*Kalium ferri cyanatum* p. a.	60 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	60 g

Metoda Fehling

Glicozuria se mai poate doza cu reactivul Fehling, al cărui titru în glucoză se fixează în prealabil cu o soluţie de glucoză 1%, ca indicator servind o soluţie de fericianură de potasiu 5%. Reacţia se face tot la cald, ca în metoda Ionescu-Matiu. În momentul în care întreaga cantitate de soluţie Fehling a fost redusă, intră în reacţie fericianura de potasiu şi apare o culoare brună-negricioasă.

Rezultate :

$$\frac{\text{Titrul în glucoză al soluţiei Fehling} \times 1\,000}{\text{Numărul mililitrilor de urină întrebuinţată}} = \text{grame de glucoză la litru}$$

Metoda Denigès

Urina se diluează cu reactivul Denigès de 6, 7 pînă la 10 ori, după intensitatea reacţiei calitative. Se procedează apoi ca la dozarea în sînge. La calcularea rezultatului se va avea în vedere factorul de diluţie a urinii.

6. CERCETAREA ALTOR GLUCIDE, AFARĂ DE GLUCOZĂ, ÎN MELITURII

Reacţia Rubner pentru cercetarea lactozei în urină

Reactivi : soluţie acetat neutru de plumb 10 g% ; amoniac 5 ml.

Tehnică. La 10 ml de urină se adaugă 10 picături din soluţie 10% acetat de plumb şi apoi se fierbe. Urina ia o coloraţie galbenă-brună. Cît timp amestecul este încă cald, se adaugă amoniac picătură cu picătură şi se amestecă.

Rezultate. Dacă urina conţine lactoză, se produce o culoare roşie-cărămizie, iar la răcire un precipitat vişiniu-arămiu, cu decolorarea lichidului supernatant. Glucoza dă un precipitat roz-portocaliu.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	100 ml
Cod 14 146 +)	*Plumbum aceticum* pt. a.	7 g

Reacţia Seliwanoff pentru cercetarea levulozei în urină

Reactivi : rezorcină ; acid clorhidric concentrat.

Tehnică. În 3 ml acid clorhidric se dizolvă cîteva grăunţe de rezorcină. Se adaugă 6 ml de urină, iar amestecul se încălzeşte 2—3 minute la baia de apă la 100°. O încălzire mai îndelungată împiedică reacţia.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultate. În cazul prezenţei de levuloză în urină, apare rapid şi intens o coloraţie roz, cu depunerea unui precipitat care se dizolvă în alcool.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a. .	500 ml
Cod	14 730	*Resorcinum resublimatum* p. a. . . .	10 g

7. CERCETAREA CORPILOR CETONICI (calitativă)

Reacţia Legal

Reactivi : acid acetic glacial ; soluţia de nitroprusiat de sodiu 25% ; amoniac.

Tehnică. Într-o eprubetă se pun 10 picături de acid acetic şi 10 picături din soluţia de nitroprusiat de sodiu. Se adaugă 2—3 ml de urină; se amestecă. Prelingînd pe marginea eprubetei, se adaugă 1—2 ml de soluţie de amoniac. Dacă urina conţine corpi cetonici, apare la limita de separaţie o coloraţie violetă.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a.	80 ml
Cod	2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	300 ml
Cod	12 122	*Natrium nitroprusicum* p. a.	20 g

8. CERCETAREA ACIDULUI DIACETIC (calitativă)

Reacţia Gerhard

Reactivi : acid sulfuric diluat 1/6 ; soluţie de perclorură de fier 10%.

Tehnică. Se pun într-o eprubetă 5 ml de urină proaspătă, acidulată cu cîteva picături din soluţia de acid sulfuric. Se adaugă soluţie de perclorură de fier, picătură cu picătură.

Rezultate. Mai întîi se formează un precipitat, care se redizolvă pe măsură ce picurăm soluţia. Dacă urina conţine acid diacetic, apare o coloraţie roşie-aprinsă.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anh.* p. a.	10 ml
Cod	7 738	*Ferrum sesquichloratum cryst.* p. a. .	15 g

9. CERCETAREA AMONIACULUI TOTAL ŞI AMINIC (cantitativă)

Metoda Sörensen-Ronchese

Reactivi : soluţie de hidroxid de sodiu N/10 ; soluţie alcoolică de fenolftaleină 2% ; soluţie formol 20%.

Scanned with OKEN Scanner

Prepararea soluţiilor

— Soluţie de hidroxid de sodiu N/10 (vezi pag. 22)
— Soluţie alcoolică de fenolftaleină
Fenolftaleină 2 g
Alcool 96° 100 ml
— Soluţia de formol. Se prepară din formol comercial 40% diluat jumătate cu apă. Soluţia trebuie să fie neutră ; în acest scop se adaugă, înainte de întrebuinţare, soluţie de hidroxid de sodiu N/10, picătură cu picătură, în prezenţa fenolftaleinei, pînă ce apare o culoare roz persistentă.

Tehnică. Într-un balon Erlenmeyer se pun 10 ml urină filtrată şi 10 ml apă distilată fiartă şi răcită. Se adaugă apoi cîteva picături din soluţia de fenolftaleină şi se titrează cu soluţia de hidroxid de sodiu pînă la apariţia coloraţiei roz. În acest moment se adaugă 20 ml din soluţia neutră de formol. Coloraţia roz dispare din cauza eliberării grupărilor acide. Se titrează cu soluţia de hidroxid de sodiu pînă la apariţia din nou a culorii roz persistente.

Rezultate. Se dau în grame amoniac la litru sau în grame azot amoniacal şi aminic, ştiind că 1 ml din soluţia de hidroxid de sodiu N/10 corespunde la 1,76 mg amoniac sau 1,44 mg azot. Se înmulţeşte astfel numărul de mililitri obţinut la titrare, după adăugarea formolului, cu coeficienţii de mai sus, iar rezultatul se înmulţeşte încă cu 100.

Normal urina conţine 0,5—1,2 g amoniac sau azot aminoamoniacal la litru.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	100 ml
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	1 500 ml
Cod 18 504	*Natrium hydricum* N/10	2 500 ml
Cod 20 482	*Phenolphtaleinum*	1 g

10. CERCETAREA NITRIŢILOR

Reacţia Griess

Reactivi : acid sulfanilic ; α-naphtylamină ; acid acetic glacial.

Prepararea soluţiei

Reactivul se prepară din :
Acid sulfanilic 5 g
α-naphtylamină 3 g
Apă distilată 600 ml
Dizolvarea se face la cald.
După dizolvare se adaugă :
Acid acetic glacial 10 ml. Se completează cu apă distilată pînă la 1 000 ml.
Reactivul se păstrează un anumit timp. Dacă se colorează spontan în roşu, din cauza acidului azotic din aer, se tulbură sau devine urît mirositor, el nu mai poate fi întrebuinţat. De aceea, în cazul cînd reacţia se execută mai rar, este bine să se prepare numai 200 ml de reactiv.

Tehnică. Într-o eprubetă se pun 10 ml de urină. Se adaugă 5 ml de reactiv. Se agită.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultate. În cazul urinilor cu nitriţi, dezvoltaţi prin fermentaţiile determinate de colibacili, se produce o culoare roz-roşiatică cu atît mai intensă, cu cît şi cantitatea de nitriţi este mai mare. Urina normală nu conţine nitriţi.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	7 ml
Cod	242 +)	*Acidum amino benzolsulfonicum para* pt. a.	3 g
Cod	11 588	*α-Naphtylaminum* p. a.	2 g

11. DOZAREA UREEI URINARE (Metoda Kowarski)

Se face ca şi în sînge, prin metoda Kowarski, cu aparatul Alin Popescu. Avînd în vedere însă că urina conţine de 20—30 ori mai multă uree decît sîngele, ea va trebui, înainte de defecare, diluată de 5—10 ori. La calcularea rezultatului se va avea în vedere diluţia.

Rezultate : 20—35 g/24 de ore.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	9 856 +)	*Kalium sulfuricum* pt. a.	350 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	800 g

Dacă se întrebuinţează aparatul Kowarski (original) cantităţile de mai sus sînt de 2—3 ori mai mari :

Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a. . . .	60 g
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	200 ml
Cod	4 287	*Bromum* p. a.	15 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	200 g

12. DOZAREA ACIDULUI URIC

Se efectuează ca şi dozarea acidului uric în sînge, cu deosebirea că se lucrează pe urina diluată 1/10.

Rezultate : 0,4 şi 1 g/24 de ore.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	1 366	*Acidum phosphoricum* 85 % D = 1,71 p. a.	8 ml
Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	80 g
Cod	4 287	*Bromum* p. a.	1 ml
Cod	10 374	*Lithium sulfuricum* p. a.	20 g
Cod	11 847 +)	*Natrium carbonicum siccum* pt. a. . .	100 g
Cod	12 235	*Natrium phosphowolframicum* p. a. . .	10 g

Scanned with OKEN Scanner

Soluţie Standard anual

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	5 ml
Cod	1 640	*Acidum uricum* p. a.	1,5 g
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	30 ml
Cod	10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a. . .	1 g

13. DOZAREA CREATININEI

Reactivi : soluţie saturată de acid picric ; soluţie de hidroxid de sodiu 10% ; soluţie standard de creatinină 0,1 g%.

Soluţiile 1 şi 3 se prepară ca la dozarea creatininei în sînge.

Tehnică. 1 ml de urină se pune într-un balon cotat de 100 ml, se adaugă 20 ml din soluţie de acid picric şi 1,5 ml din soluţia de hidroxid. Se agită. Se lasă 10 minute. Se aduce cu apă distilată la 100 ml. Dacă amestecul este tulbure se filtrează.

În acelaşi fel se va trata 1 ml din soluţia standard de creatinină, care conţine deci 1 mg de creatinină.

Se colorimetrează la colorimetrul Dubosque.

Rezultatul se dă după formula :

$$\frac{\text{Înălţime standard}}{\text{Înălţime minimă}} \times 100 = \text{creatinină în mg \% urină}$$

Normal : 1,5 g/24 de ore.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	1 397	*Acidum picricum* p. a.	55 g
Cod	5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	10 ml
Cod	5 865	*Creatinină* p. a.	0,15 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	40 g
Cod	18 034	*Acidum hydrochloricum* N/10 . . .	15 ml

Colorimetrarea se poate face şi la fotometrul Pulfrich sau un foto-colorimetru cu celulă fotoelectrică, după stabilirea în prealabil a curbei de etalonare. Se utilizează filtrul S_{53}.

După etalonare, reactivii necesari se reduc la jumătate (acidul picric şi hidroxidul de sodiu).

14. CERCETAREA PIGMENŢILOR BILIARI ŞI A DERIVAŢILOR LOR

a) *Determinarea calitativă a pigmenţilor biliari*

Metoda Gmelin (pigmenţi biliari)

Reactivi : reactiv Gmelin 100 ml.

Prepararea reactivului

Acid nitric concentrat	100 ml
Acid nitric *fumans*	2 gtt.

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică. Într-o eprubetă se pun 1—2 ml acid nitric nitros peste care se adaugă încet, cu grijă, pentru ca cele două lichide să nu se amestece, 2—3 ml de urină. La limita de separație a celor două lichide apare un inel verde, în cazul cînd urina conține pigmenți biliari.

Rezultate. Se exprimă prin unu, doi, trei sau patru plusuri : (+, ++, +++ și ++++) după intensitatea colorației și grosimea inelului verde.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 189 C *Acidum nitricum* p. a. D=1,40 . . . . 250 ml
Cod 1 193 *Acidum nitricum fumans* D=1,52 p. a. 5 ml

Reacția cu tinctură de iod Gilbert Marchal-Rosin

Reactivi : tinctură de iod.

Prepararea reactivului

Iod metalic 20 g
Iodură de sodiu 20 g
Alcool 50° pînă la 1 000 ml.

Alcoolul de 50° se prepară din alcoolul obișnuit de 96°, amestecînd 100 ml din acesta cu 98,15 ml apă.

Tehnică. Într-o eprubetă se pun 2—3 ml de urină peste care se lasă să cadă, în așa fel încît lichidele să nu se amestece, 1 ml tinctură de iod simplă sau diluată de 1—2 ori în alcool. În cazul prezenței bilirubinei în urină, la limita de separare dintre lichide apare un inel verde închis.

Rezultate. Se exprimă prin 1, 2, 3 sau 4 plusuri după intensitatea colorației și grosimea inelului verde.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 2 334 +) *Alcohol aethylicus* 90° pt. a. . . . . 160 ml
Cod 9 374 *Jodum metallicum resublimatum pss.* . . 8 g
Cod 12 053 +) *Natrium iodatum* pt. a. . . . . 8 g

Metoda Fouchet (bilirubină)

Reactivi : soluție clorură de bariu 15 g% ; reactiv Fouchet 130 g.

Prepararea soluției Fouchet

Acid tricloracetic 25 g
Apă distilată 100 ml
Soluție de clorură ferică 10 g% 5 ml

Tehnică. Într-o eprubetă se pun 10 ml de urină și 5 ml din soluția de clorură de bariu ; se agită bine și se filtrează. Pe hîrtia de filtru rămîne precipitatul de bilirubinat de bariu. Filtrul se întinde peste altă hîrtie de filtru uscată, iar peste precipitat se lasă să cadă 2—3 picături din reactivul Fouchet.

Rezultate. În cazul prezenței de bilirubină, precipitatul care era colorat alb-cenușiu se colorează în verde-albăstrui.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi (necesari pentru 100 de determinări)

Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	5 g
Cod	3 761 +)	*Barium chloratum* pt. a.	100 g
Cod	7 645 +)	*Ferrum chloratum oxydatum anhydricum* p. a.	1 g

b) *Urobilinogen*

Metoda Ehrlich

Reactivi : reactivul Ehrlich ; cloroform.

Prepararea reactivului Ehrlich

Paradimetilaminobenzaldehidă 2 g
Soluție de acid clorhidric 20% 100 ml

Tehnică. Într-o eprubetă se pun 5—10 ml urină proaspătă, cît mai curînd după emisiune. Se adaugă 10 picături din reactivul Ehrlich și se agită.

Pentru o mai mare precizie a reacției, se adaugă, peste amestecul de urină și reactiv, 1—2 ml cloroform. Se agită, apoi se lasă eprubeta în stativ. Cloroformul se adună la fundul ei și ia o culoare roșie-violetă.

Rezultate. Dacă urina se înroșește chiar la rece, înseamnă că ea conține o cantitate crescută de urobilinogen. Dacă urina se înroșește numai atunci cînd încălzim eprubeta la flacără, înseamnă că urobilinogenul se află în cantitate normală. Dacă urina nu se înroșește nici la cald, înseamnă că nu conține urobilinogen.

Rezultatul se înseamnă cu +, ++, +++ sau ++++, după intensitatea colorației cloroformului de la fundul eprubetei.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	30 ml
Cod	5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	300 ml
Cod	6 718	*Dimethylamino benzaldehydum para* p. a.	1,5 g

c) *Urobilina*

Metoda Schlesinger

Reactivi : reactivul Schlesinger.

Prepararea reactivului Schlesinger

Acetat de zinc 10 g
Alcool 90° 100 ml
Înainte de întrebuințare, reactivul se agită.

Tehnică. 3—4 ml de urină se pun într-o eprubetă peste care se adaugă o cantitate egală de reactiv. Se agită bine. Se filtrează.

Rezultate. Filtratul se examinează pe fond închis spre a observa fluorescența. Dacă fluorescența există, după intensitate se înseamnă cu +, ++, +++ sau ++++.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 2 334 +) *Alcohol aethylicus* 90° pt. a. . . . . 400 ml
Cod 17 253 +) *Zincum aceticum* pt. a. . . . . 40 g

d) *Determinarea calitativă a sărurilor (acizilor) biliare*

Reacţia Hay

Reactiv : floare de sulf.

Tehnică. Într-un pahar conic de 30 ml se pun 25—30 ml de urină. La suprafaţă se presară un vîrf de briceag de floare de sulf.

Rezultate. Dacă urina nu conţine acizi biliari, sulful pluteşte la suprafaţă. Dacă urina conţine acizi biliari, pulberea de sulf cade încet spre fundul paharului, unde se adună în întregime după cîteva minute.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 15 466 +) *Sulfum sublimatum pulvis purif.* . . 30 g

15. DETERMINAREA CALITATIVĂ A PREZENŢEI SÎNGELUI

Reacţia Adler

Reactivi : acid acetic glacial ; benzidină în pulbere ; apă oxigenată (perhidrol diluat 1 la 10).

Tehnică. Într-o eprubetă se pune un vîrf de cuţit de benzidină şi 1 ml de acid acetic glacial ; se agită pentru dizolvare ; se adaugă 2—3 ml de urină, se amestecă şi apoi se adaugă 1 ml de apă oxigenată.

Rezultate. Dacă urina conţine sînge, apare o culoare albastră-închisă, ca cerneala.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 139 *Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . . 150 g
Cod 3 895 *Benzidinum* p. a. . . . . 30 g
Cod 8 859 *Hydrogenium peroxydatum* 30% p. a. 15 ml

16. DETERMINAREA IONILOR ŞI SĂRURILOR ANORGANICE

Dozarea clorurilor

Metoda Mohr

Reactivi : nitrat de argint soluţie 29,06‰ ; cromat de potasiu soluţie 7%.

Tehnică. Într-un balon Erlenmeyer de 25 ml se pun 1 sau 2 ml de urină, 5—6 ml apă bidistilată şi 2—3 picături din soluţia de cromat de potasiu. Se titrează cu soluţia de nitrat de argint pînă la apariţia unei culori roşii persistente.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultat. Avînd în vedere că la 1 ml din soluţia de nitrat de argint corespund 10 mg de clorură de sodiu, rezultatul se calculează înmulţind numărul de mililitri de soluţie întrebuinţată la titrare cu 1 000 (dacă am lucrat pe 2 ml de urină, rezultatul se împarte la 2). Obţinem cantitatea de cloruri în grame la litru.

Urina normală conţine 10—15 g de cloruri în 24 de ore.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	8 g
	sau	
Cod 18 166	*Argentum nitricum* N/1	50 ml
Cod 9 614	*Kalium chromicum* p. a.	4 g

Dozarea fosforului mineral

Reactivi : cărbune animal ; reactivii necesari la dozarea fosforului în sînge.

Tehnică. Urina este decolorată cu cărbune. Din filtrat se iau 1—5 ml, după conţinutul bănuit în fosfor şi se pun într-un balon cotat de 100 ml. Se adaugă 25 ml apă. În alt balon se pun 5 ml dintr-o diluţie a soluţiei standard 1/10. 5 ml din această soluţie vor conţine deci 0,5 mg fosfor. Se adaugă în ambele baloane cîte 5 ml din soluţia de molibdat şi 5 ml din soluţia de hidrochinonă. După 5 minute se adaugă cîte 25 ml din soluţia de carbonat sulfit şi după alte 5 minute se completează la semn cu apă bidistilată.

Se colorimetrează la colorimetrul Dubosque.

Rezultat. Calculul se face după formula :

$$\frac{\text{Înălţimea etalon} \times 50}{\text{Înălţimea urinii} \times \text{mililitri întrebuinţaţi}} = \text{miligrame de fosfor \%}$$

Conţinutul urinii normale variază între 40 şi 120 mg fosfor mineral la 100 ml urină.

Colorimetrarea se poate face şi la fotometrul Pulfrich sau la un fotocolorimetru cu celulă fotoelectrică, după stabilirea prealabilă a curbei de etalonare, cu filtrul S_{61}.

În acest caz, substanţele necesare se reduc la jumătate ; de asemenea, după etalonare, soluţia standard nu mai este necesară.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	300 ml
Cod 3 007	*Ammonium molibdaenicum cryst.* p. a.	13 g
Cod 5 229	*Carboanimalis pulvis* p. a.	50 g
Cod 5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	10 ml
Cod 8 853	*Hydrochinonum* p. a.	5 g
Cod 9 787 a	*Kalium phosphoricum monobasicum Sörensen* p. a.	0,3 g
Cod 11 840 +)	*Natrium carbonicum cryst.* pt. a. . .	150 g
Cod 12 367	*Natrium sulfurosum cryst.* p. a. . . .	40 g

Scanned with OKEN Scanner

Dozarea calciului

a) *Metoda titrimetrică*

Reactivi : Reactivii necesari ca la metoda titrimetrică de dozare a calciului în sînge ; cărbune animal, spălat în soluţie de acid acetic 5% şi uscat.

Tehnică. Se pun 2 ml de urină, 3 ml de apă, 1 ml de acid tricloracetic şi un vîrf de cuţit de cărbune animal. Se agită şi apoi se filtrează, după 30 de minute. Se iau din filtrat 3 ml pe care se face dozarea, urmînd tehnica descrisă la dozarea calciului în sînge.

Rezultate. La calcularea rezultatului se va avea în vedere că în condiţiile diluţiilor de mai sus dozarea s-a făcut pe 1 ml urină.

Eliminarea zilnică prin urină este de 0,07—0,3 g calciu.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 249	*Acidum oxalicum* p. a.	0,4 g
	sau	
Cod 18 068	*Acidum oxalicum* N/10	50 ml
Cod 1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	12 g
Cod 1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a. . . .	60 g
Cod 2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	10 ml
Cod 3 024 +)	*Ammonium oxalicum* pt. a.	6 g
Cod 5 229	*Carboanimalis pulvis* p. a.	15 g
Cod 9 767	*Kalium permanganicum* p. a.	0,3 g
	sau	
Cod 18 406	*Kalium permanganicum* N/10 . . .	80 ml
Cod 11 638 +)	*Natrium aceticum cryst.* pt. a. . . .	75 g

b) *Metoda la fotometru cu flacără*

Se execută întocmai ca la dozarea calciului în sînge.

Se lucrează pe urină diluată 1/20.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	6 ml
Cod 5 027 A	*Calcium carbonicum siccum* p. a. . . .	0,03 g
Cod 9 600 +)	*Kalium chloratum cryst.* pt. a. . . .	0,05 g
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	1 g

Dozarea sodiului

Metoda la fotometru cu flacără

Reactivi : clorură de sodiu.

Tehnică. Se execută ca şi dozarea sodiului în serul sanguin, diluînd urina de 100 de ori. Dacă conţinutul în sodiu este mic şi nu intră în li-

Scanned with OKEN Scanner

mitele curbei de etalonare, atunci dozarea se va face pe diluţii mai mici, 1 la 50 sau chiar 1 la 20. La calcularea rezultatelor se va avea în vedere diluţia de urină pe care s-a efectuat examenul.

Eliminarea zilnică prin urină este de 3—6,5 g sodiu.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 11 862 *Natrium chloratum* pt. a. . . . . 1 g

Dozarea potasiului

Metoda la fotometru cu flacără

Reactivi : clorură de calciu anhidră ; clorură de potasiu ; clorură de sodiu.

Tehnică. Se execută ca şi dozarea potasiului în sînge, dar pe diluţii de urină de 1/100. Dacă conţinutul în potasiu al urinii este mai mic şi nu intră în limitele curbei de etalonare, atunci dozarea se face pe diluţii mai mici. La calcularea rezultatului se va avea în vedere diluţia de urină pe care s-a efectuat dozarea.

Eliminarea zilnică prin urină este de 2,5 g potasiu.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 5 041 +) *Calcium chloratum anhydricum* pt. a. 5 g
Cod 9 600 +) *Kalium chloratum cryst.* pt. a. . . . 0,03 g
Cod 11 862 *Natrium chloratum* pt. a. . . . . 150 g

17. CERCETAREA HORMONILOR SUPRARENALI

Dozarea 17-cetosteroizilor

Reactivi : acid clorhidric fumans ; eter sulfuric ; alcool metilic ; reactivul Zimmermann ; hidroxid de potasiu soluţie 5/N ; soluţie acid clorhidric N/1 ; soluţie de roşu de metil 0,1 g% în alcool ; soluţie de hidroxid de sodiu 10% ; alcool 96°.

Dehydroizoandrosteron pentru etalonarea curbei de colorimetrare.

Prepararea soluţiilor

— Hidroxid de sodiu soluţie 5/N conţine 224,416 g la litru de substanţă, titrată cu soluţie de acid clorhidric N/1, avînd ca indicator roşu de metil.

— Reactiv Zimmermann se prepară din :

m-dinitrobenzol	2 g
Alcool metilic	100 ml

Tehnică. Din urina recoltată în 24 de ore, conservată prin adaos de cîţiva ml de acid clorhidric şi măsurată, se iau 50 ml la care se adaugă 15 ml de soluţie de acid clorhidric N/1. Se pun într-un refrigerator cu reflux şi se ţin 10 minute într-o baie la 80°. După răcire se pun 10 ml din hidrolizat într-o pîlnie de extracţie, se adaugă 50 ml de eter şi se agită timp de 1 minut. Se lasă în repaus şi, după separare, se îndepărtează partea apoasă. Eterul se spală o dată cu 20 ml din soluţia de hi-

Scanned with OKEN Scanner

droxid de sodiu şi apoi încă o dată cu 2 ml apă bidistilată. Se repartizează cîte 20 ml din extractul eteric în 2 eprubete mai largi, de tip Hagedorn. Se evaporă pînă la uscare. Reziduul uscat se dizolvă în alcool metilic în 1 ml în prima eprubetă şi în 2 ml în a doua eprubetă. Această ultimă eprubetă va servi martor la colorimetrare. În prima eprubetă se adaugă 1 ml din reactivul Zimmermann. Se pune apoi în fiecare eprubetă cîte 1 ml de soluţie de hidroxid de potasiu şi se lasă eprubetele astupate într-o baie de 25°, 90 de minute, în care timp se dezvoltă o culoare. După aceea se mai adaugă cîte 5 ml de alcool metilic în fiecare eprubetă. După amestec se colorimetrează la fotometrul Pulfrich cu cuva de 1 ml şi filtrul S_{53}. Extincţia găsită se raportează la curba de etalonare.

Rezultate. Pentru etalonare, se construieşte o curbă plecînd de la diluţii dintr-o soluţie de 10—20 mg dehidroizoandrosteron în 100 ml alcool metilic (la balon cotat), care se tratează în acelaşi fel, descris mai sus, ca reziduul uscat al extrasului eteric de urină. Valorile procentuale găsite în urină se calculează la volumul urinar din 24 de ore.

Cantitatea de 17-cetosteroizi, eliminată în 24 de ore, variază cu vîrsta şi sexul, după cum urmează :

Pentru	copii între 3 şi 12 ani	0—11 mg
„	bărbaţi între 17 şi 35 de ani	8—28 mg
„	bărbaţi între 36 şi 49 de ani	6—24 mg
„	femei între 15 şi 64 de ani	3—15 mg

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	300 ml
Cod 1 770	*Aether aethylicus* pt. a.	6 000 ml
Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	10 ml
Cod 2 417 +)	*Alcohol methylicus* p. a.	2 000 ml
Cod 6 823	*Dinitro-benzol meta* p. a.	2,5 g
Cod 9 672	*Kalium hydricum in rotulis* p. a. . . .	60 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	250 g
Cod 18 028	*Acidum hydrochloricum* N/1	50 ml
Cod 20 092	*Methyl rot cryst.*	0,01 g
	Dehydroizoandrosteron	10 mg
	(nu mai este necesar după construirea curbei).	

18. CERCETAREA FERMENŢILOR PANCREATICI

Determinarea amilazuriei

Se face după metoda Wohlgemuth, ca în sînge. La 37°, timp de 30 de minute, valorile normale variază între 8 şi 32 u.W. (unităţi Wohlgemuth).

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 3 210	*Amylum solubile* pt. a.	2,5 g
Cod 9 374	*Jodum metallicum resublimatum* pss. .	1 g
Cod 9 695 b	*Kalium jodatum* p. a.	2 g
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	15 g

Scanned with OKEN Scanner

C. EXAMENE MORFOLOGICE ALE SEDIMENTULUI URINAR

Sedimentul urinar

a) *Determinarea calitativă* se execută între lamă şi lamelă după centrifugarea urinii proaspete (5—6 minute la 1 500 de ture pe minut) pe un preparat proaspăt de sediment. Nu necesită reactivi speciali.

b) *Determinarea cantitativă*, constînd în numărătoarea elementelor figurate, celulare sau cilindri, din urină, nu cere nici ea reactivi speciali. Rezultatul se dă, după metoda întrebuinţată, fie la volumul global de urină eliminată, cum este în *testul Addis*, în care urina se colectează în 2 porţiuni, prima între orele 8 şi 20 şi a doua între orele 20 şi 8 ; fie pe minut, ca în *metoda Hamburger*, în care este important de cunoscut cantitatea de urină eliminată într-un anumit timp, fie — cum se lucrează mai frecvent — pe mililitri de urină, după *metoda Stansfeld*. Elementele care se numără sînt celulele pavimentoase, celulele epiteliale din căile superioare, leucocitele, hematiile şi cilindrii. Numărătoarea se face la celula Fuchs-Rosenthal sau, cînd elementele sînt mai numeroase, chiar la celula Bürker-Türk.

II. EXAMENE DE SÎNGE

1. TESTE DE DISPROTEINEMIE

a) *Dozarea proteinelor cu raportul albumine/globuline : metoda gravimetrică.*

Reactivi : soluţie tampon acetat ; soluţie saturată de sulfat de amoniu ; amestec alcool şi eter ; eter sulfuric ; amoniac ; hidroxid de bariu soluţie 10 g%.

Prepararea soluţiilor

Soluţie tampon acetat

Acid acetic glacial . . . . 56 ml
Acetat de sodiu . . . . . 118 g
Apă distilată pînă la 1 litru

Soluţie saturată de sulfat de amoniu

Într-un pahar cu 100 ml apă distilată se pun 85 g sulfat de amoniu. Se încălzeşte pînă la dizolvare totală. Soluţia se lasă să se răcească şi se ţine cîteva zile la temperatura camerei ; apoi se filtrează. După un timp, pe fundul flaconului se depun cîteva cristale. La întrebuinţare se foloseşte numai supernatantul, care se controlează să nu aibă reacţie acidă cu hîrtia de turnesol. Dacă a devenit acid, se alcalinizează cu cîteva picături de amoniac.

Amestec alcool-eter

Alcool 96° . . . . . 3 părţi
Eter sulfuric . . . . . 1 parte

Tehnică.

Proteine totale. Se pun într-o eprubetă 1 ml de ser, 3 ml soluţie tampon şi 4—5 picături de soluţie saturată de sulfat de amoniu. Se fierbe în baie 1/2 oră. Se filtrează printr-un filtru cantitativ de diametru

Scanned with OKEN Scanner

6—8 cm, în prealabil adus la greutate constantă la 105° și tarat. Se spală eprubeta și filtrul cu apă, pînă ce apa de spălare care trece nu mai conține sulfați, ceea ce se constată cu ajutorul unei soluții de hidroxid de bariu. Apoi se degresează de 3—4 ori cu amestecul de alcool-eter, cîte 4—5 ml și apoi de două ori cu 5—6 ml eter. Se lasă la etuvă la 105° pînă la greutate constantă.

Rezultate. Diferența de greutate exprimată în miligrame înmulțită cu 1 000 ne dă conținutul în proteine totale exprimat în grame la litru de ser.

Albumine. Într-un tub de centrifugă se pun 1 ml ser, 2 ml apă distilată și 3 ml soluție saturată de sulfat de amoniu. Se lasă în repaos 3 ore. Se centrifughează energic. Globulinele sînt precipitate, în supernatant rămînînd albuminele. Din supernatantul limpede se iau 3 ml, se adaugă 3 ml soluție tampon acid acetic-acetat, se fierbe la baie în clocote 1/2 oră și se continuă ca la dozarea proteinelor totale.

Rezultate. Diferența exprimată în miligrame dintre cîntăriri se înmulțește cu 2 000, rezultînd cantitatea de albumine în grame la litru de ser.

Într-un ser normal, proteinele totale variază între 70 și 80 g‰, albuminele între 40 și 50 g, iar globulinele între 25 și 30 g. Raportul A/G variază la o proteinemie normală între 1,6 și 1,8, avînd ca limite extreme 1,4 și 2,5.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări de proteine cu raport)

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	50 ml
Cod	1 770	*Aether aethylicus* pt. a.	800 ml
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	600 ml
Cod	2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	50 ml
Cod	3 103 +)	*Ammonium sulfuricum* pt. a.	60 g
Cod	3 784 +)	*Barium hydricum* pt. a.	20 g
Cod	11 638 +)	*Natrium aceticum cryst.* pt. a. . . .	100 g
Cod	21 040	*Papier lackmus neutrale*	100 de benzi

b) *Dozarea fotometrică* (Weichselbaum)

Reactivi : reactiv Weichselbaum ; soluție de hidroxid de sodiu 10 g%.

Prepararea reactivului

Soluție de tartrat dublu de sodiu și de potasiu	45 g
Hidroxid de sodiu 10 g%	400 ml
Sulfat de cupru	15 g
Se dizolvă complet la cald și se adaugă	
Iodură de potasiu	5 g

se răcește și se aduce la 1 000 cu apă distilată.

Tehnică. Se pun într-o eprubetă 0,2 ml ser, 1,8 ml apă distilată, 1 ml hidroxid de sodiu 10% și 3 ml reactiv Weichselbaum ; simultan se prepară o probă martor în care se pun 2 ml apă distilată, 1 ml hidroxid

Scanned with OKEN Scanner

şi 3 ml soluţie Weichselbaum. Se amestecă. Se lasă 30 de minute. Se citeşte la fotometrul Pulfrich cu filtrul S 57, pe cuva de 0,5 cm, avînd ca martor proba oarbă.

Rezultate. Extincţia citită se înmulţeşte cu 200. Cantitatea de proteine totale în grame, normal este de 6,5—8 g%.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	6 032	*Cuprum sulfuricum anhydricum* p. a. .	12 g
Cod	9 695 b	*Kalium jodatum* p. a.	4 g
Cod	9 732 +)	*Kalium natrium tartaricum* pt. a. . .	36 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	50 g

c) *Dozarea fibrinogenului. Metoda gravimetrică*

Reactivi : soluţie de citrat de sodiu 3,6% ; soluţie de clorură de calciu 5 g% ; alcool 96° ; eter ; filtre din hîrtie cantitativă, diametru 5—6 cm.

Tehnică. Se recoltează 9 ml sînge pe 1 ml soluţie de citrat 3,6 g%. Se centrifughează. Se iau 2,50 ml plasmă, corespunzînd la 2,25 ml de sînge şi se tratează, picătură cu picătură, cu o soluţie de clorură de calciu 5% pînă ce plasma coagulează. Se lasă cîteva ore la termostat la 37°. Apoi, cu o baghetă fină de sticlă sau cu o ansă de platină, se desprinde cheagul de fibrină şi se stoarce în eprubetă. Se spală de cîteva ori cu apă, apoi cu alcool şi în urmă cu eter. Se filtrează pe un filtru tarat în prealabil şi se cîntăreşte, pînă la greutatea constantă la uscare la 105°.

Rezultate. Greutatea în mg obţinută, înmulţită cu 1 000 şi împărţită la 2,25 ne dă cantitatea de fibrinogen la litru de plasmă.

Este recomandabil ca proba să se execute în dublu sau chiar în triplu.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	1 770	*Aether aethylicus* pt. a.	4 000 ml
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	4 000 ml
Cod	5 036 +)	*Calcium chloratum* pt. a.	60 g
Cod	11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	10 g

d) *Proteinograma. Metoda electroforetică pe hîrtie*

— Electroforeza pe hîrtie

O determinare electroforetică se compune din trei timpi :

— migrarea şi separarea fracţiunilor proteice ;

— fixarea şi colorarea spotului obţinut ;

— evaluarea cantitativă a diverselor fracţiuni.

Orice electroforeză se întovărăşeşte şi de o dozare de proteine totale.

Scanned with OKEN Scanner

Timpul I: migrarea şi separarea fracţiunilor (albumine α_1 şi α_2, ß şi γ globuline.

Reactivi: soluţia tampon veronalacetat; hîrtie de filtru Whatmann nr. 1 tăiată în benzi perfect dreptunghiulare de 30/4 cm.

Prepararea tamponului veronalacetat

Veronal sodic	11,78 g
Acetat de sodiu	7,76 g
Clorură de sodiu	3,40 g
Soluţie de acid clorhidric N/1	6 ml

Apă bidistilată (la balon cotat) pînă la 2 000 ml.

Se dizolvă în ordinea arătată; se păstrează la frigider. Soluţia poate fi utilizată de 4—5 ori, vara de mai puţine ori, iarna de mai multe.

Soluţia are un pH de 8,6 şi o forţă ionică de 0,1; pH-ul se controlează cu hîrtie indicator.

Tehnică. Se umplu şanţurile laterale ale cuvei cu soluţie tampon aşa ca nivelul soluţiei să fie în ambele părţi acelaşi. La cuvele obişnuite este necesar aproape un litru de soluţie. Se face legătura electrică a cuvei cu redresorul, aşa ca polul pozitiv să fie pus la polul negativ al determinării precedente. Se umezesc benzile de hîrtie şi se scurge excesul, punîndu-le întinse pe hîrtie de filtru obişnuită. Se fixează pe stativul de migrare (dacă cumva are acest dispozitiv) sau direct în cuvă, aşa ca să stea perfect întinse, să nu se atingă între ele şi capetele lor să se cufunde în soluţia tampon aflată în cele două şanţuri laterale ale cuvei. Se dă drumul curentului electric pentru echilibrare, la un voltaj de 150 V, timp de 45—60 de minute.

După acest timp se închide curentul şi se aplică serul pe benzi, la catod, la o distanţă de 11 cm de capătul hîrtiei, loc însemnat în prealabil cu o linie trasă cu creionul. Se utilizează cam 0,06 ml ser (1/3 din conţinutul unei pipete pentru recoltat sîngele pentru dozarea hemoglobinei cu hemoglobinometrul Sahli). Serul se dispune liniar, cît mai omogen.

Se acoperă cuva cu capacul care trebuie să fie perfect etanş. Se dă drumul la curentul electric, la un voltaj de 100 de volţi şi un amperaj de 2 miliamperi pentru 4 cm de lăţime de bandă. În aparatele obişnuite se pot pune pînă la 8 benzi deodată, deci amperajul va fi de 16 miliamperi. Migrarea şi separarea durează în aceste condiţii 16—18 ore.

Reactivi necesari (pentru 100 de electroforegrame)

Cod 11 641	*Natrium aceticum* p. a.	20 g
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	10 g
Cod 11 920	5—5 *Natrium diaethylbarbituricum* p.a.	30 g
Cod 18 028	*Acidum hydrochloricum* N/1	20 ml
Cod 21 190	*Papier universal Indikator* pH 0—12	20 benzi
	sau	
Cod 21 285	*Papier Indikator* pH 7,2—9,5	20 benzi

Timpul al II-lea: fixarea şi colorarea spoturilor

Reactivi: soluţia colorantă; soluţie de acid acetic glacial 2% ; amoniac concentrat.

Scanned with OKEN Scanner

Prepararea soluției colorante

Albastru de bromfenol	0,1 g
Sulfat de zinc	50 g
Acid acetic glacial	50 ml
Apă distilată pînă la	1 000 ml

Soluția asigură colorarea a 200—300 de benzi.

Tehnică. După cele 16—18 ore de migrare și separare, se întrerupe curentul din aparat, se desface capacul cuvei, se scoate stativul cu benzi sau benzile, se lasă 1/2 oră — o oră să se zvînte la temperatura camerei. Se scoate lichidul tampon din cuvă. Benzile se introduc într-o etuvă, la 110° timp de 20 de minute, pentru fixare. Apoi se scot din etuvă, se lasă să se răcească cîteva minute și se introduc în baia de colorant — o tavă dreptunghiulară de dimensiuni adecvate — în care se pune întreaga cantitate de colorant. Colorația durează 6—8 ore, cu colorantul proaspăt preparat. Cînd acesta se învechește, adică se diluează în albastru de bromfenol, care este fixat de proteinele de pe spoturi, colorația durează mai mult, pînă la 18 și chiar 24 de ore. Spoturile iau o colorație verzuie. Colorantul se conservă în flacon. Excesul de colorant de pe benzi se îndepărtează, trecînd spoturile succesiv în cîte 3 băi de aproximativ 500 ml acid acetic 2%, în care se țin cîte 5 minute. Se scot benzile din ultima baie, se zvîntă pe hîrtia de filtru curată și apoi se trec deasupra gîtului flaconului cu amoniac, cîteva secunde ; culoarea verde virează la albastru. Benzile gata colorate se usucă la temperatura camerei.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de electroforegrame)

Cod 139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	325 ml
Cod 2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a. numai ce se evaporă la gîtul flaconului	
Cod 17 398 +)	*Zincum sulfuricum* pt. a.	25 g
Cod 19 011	*Brom phenol blau*	0,05 g

Timpul al III-lea : Evaluarea cantitativă a diferitelor fracțiuni

Sînt mai multe metode. Unele — densitometria, evaluarea prin integrator — cer aparatură specială. Metoda cea mai întrebuințată este aceea a eluțiilor.

Metoda eluțiilor

Reactivi : soluție de hidroxid de sodiu N/200.

Tehnică. Se decupează spoturile de pe fracțiuni, fiecare fracțiune se taie în fîșii înguste paralele, fîșiile corespunzătoare fiecărei fracțiuni se pun în cîte o eprubetă (total 5 eprubete). Se prepară și o eprubetă martor în care se vor pune fîșii din partea de bandă rămasă necolorată. Se adaugă în fiecare eprubetă cîte 5 ml din soluția de hidroxid de sodiu N/200 ; în eprubeta corespunzătoare albuminelor se adaugă 15 ml. Cantitatea de eluant nu este fixă — ea va varia, în multiplu de 5, după intensitatea culorii spotului : la o colorație mai intensă, vom pune 10 sau 15 ml de eluant și invers, la o colorație slabă, vom pune numai 5 ml. Se

Scanned with OKEN Scanner

agită și se lasă în repaus o oră. Hidroxidul se colorează în albastru, mai slab sau mai intens, după cantitatea de proteine corespunzătoare spoturilor. Se colorimetrează la fotometrul Pulfrich, cu filtru galben S 57 în cuvă de 1 cm, avînd martor eluantul obținut cu porțiunea de hîrtie necolorată. Se citesc extincțiile, avînd în vedere la rezultat și cantitatea de hidroxid de sodiu întrebuințată.

Calcularea rezultatelor. Se adună cifrele celor cinci extincții obținute pentru cele 5 fracțiuni. Rezultatul definitiv corespunde cantității la sută din acest total, corespunzătoare fiecărei fracțiuni.

Rezultate. Cifrele obținute cu un ser normal variază în jurul valorilor următoare :

albumine	56%
α_1-globuline	4%
α_2-globuline	8%
ß -globuline	14%
γ -globuline	18%

Pentru a avea valoarea absolută a fracțiunilor de proteine, se calculează valorile corespunzătoare procentelor obținute din valoarea obținută prin dozarea proteinelor serice totale (vezi dozarea proteinelor totale).

Reactivi necesari (pentru 100 de electroforegrame)

Cod 18 504 *Natrium hydricum* N/10 . . . . . 250 ml

e) *Testul apei bidistilate* (I. Cosmulescu)

Reactivi : albastru de bromtimol soluție alcoolică 0,04%.

Tehnică. Într-o eprubetă se pune 0,1 ml ser peste care se adaugă 5 ml de apă bidistilată. Înainte de întrebuințare, apa bidistilată se fierbe timp de 10 minute, apoi se răcește la robinet pînă la temperatura laboratorului. Se încearcă reacția cu 2 picături din soluția de bromtimol ; culoarea trebuie să fie albastră și indică o reacție ușor alcalină. Se agită și se lasă pînă a doua zi. Nu se suflă în pipetă, la repartizarea serului sau a apei bidistilate, pentru că bioxidul de carbon din aerul respirator expirat poate influența reacția, precipitînd CO_2-globulinele.

Lectura se face la fotometrul Pulfrich, în cuva de 10 mm cu filtrul S 47 avînd ca martor apa. Se citește pe scara de absorbție (neagră) a tamburului. Această cifră se scade din 100. Diferența obținută este rezultatul testului.

Rezultate. Serurile normale dau o turbiditate pînă la cifra 5—8 ; cu cît disproteinemia este mai intensă, cu atît cifra de turbiditate va fi mai mare.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 2 334 +) *Alcohol aethylicus* 90° pt. a. . . . . 10 ml
Cod 19 023 *Brom thymol blau* . . . . . 0,004 g

Scanned with OKEN Scanner

f) Testul cu timol Mac Lagan

Reactivi : soluţie de timol 10% în alcool 96° ; soluţie tampon veronal — veronal sodic, la pH 7,8 ; scară de sulfat de bariu, de comparaţie a turbidităţii Kingsbury.

Prepararea soluţiilor

Soluţia tampon veronal — veronal sodic pH 7,8 se prepară astfel :

Acid dietilbarbituric . . . . . 1,38 g
Dietilbarbiturat de sodiu . . . . . 1,03 g

Se dizolvă în apă la cald, se aduce totul la 500 ml la balon cotat.

Pentru reacţie se foloseşte o soluţie de 1 ml (măsurat cu pipetă cu bulă) din soluţie alcoolică de timol, completat în balon cotat de 100 ml cu soluţia tampon.

Scara de sulfat de bariu se efectuează din următoarele soluţii :

soluţia de clorură de bariu crist. 1,15%
se păstrează vreme îndelungată

soluţie de acid sulfuric N/5.

Pentru scara Kingsbury, de comparaţie, se utilizează un amestec standard de lucru, constituit din 3 ml soluţie de clorură de bariu, completat la 100 la balon cotat cu soluţia N/5 de acid sulfuric. Acest amestec, în care se precipită sulfat de bariu, se repartizează, după schema de mai jos, în 10 eprubete de acelaşi diametru şi din aceeaşi sticlă. Eprubetele se închid fie prin topire, fie cu un dop de plută parafinat. Fiecare tub corespunde unităţilor arbitrare Mac Lagan, însemnate în coloana a 3-a. Înainte de comparare eprubetele se agită energic.

Amestec standard de lucru	Soluţie acid sulfuric N/5	Unităţi Mac Lagan
10 ml	—	20
9 ml	1 ml	18
8 ml	2 ml	16
7 ml	3 ml	14
6 ml	4 ml	12
5 ml	5 ml	10
4 ml	6 ml	8
3 ml	7 ml	6
2 ml	8 ml	4
1 ml	9 ml	2

Scara se confecţionează la 2—3 luni din nou.

Tehnică. Într-o eprubetă de aceleaşi dimensiuni şi din aceeaşi sticlă, ca acelea întrebuinţate la efectuarea scării de comparaţie Kingsbury, se pune 0,05 ml de ser peste care se adaugă 3 ml din soluţia de timol veronal — veronal sodic. Se agită ; după 30 de minute se face citirea rezultatului, comparînd tulbureala obţinută cu aceea a scării Kingsbury.

Rezultate. Rezultatul se dă în unităţi Mac Lagan. Un ser normal poate da o turbiditate pînă la 2 U (unităţi).

Rezultatele se pot citi şi la fotometrul Pulfrich în cuva de 5 mm, cu filtrul S 53, martor apa distilată, pe scara de extincţie (roşie) a tamburului. În prealabil se etalonează fotometrul cu soluţiile din scara Kingsbury. Rezultatele se vor da în unităţi Mac Lagan. În general, în aceste condiţii, ultimele două cifre din lectura extincţiei, împărţite la 2, corespund la numărul de unităţi Mac Lagan.

Rezultatele se mai pot da şi în unităţi fotometrice, citind pe scara de absorbţie (neagră) a tamburului. Un ser normal poate da o cifră între 100 şi 85. Cu cît cifra este mai mică, cu atît disproteinemia este mai accentuată.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	729	5-5-*Acidum diaethylbarbituricum* p. a.	1,38 g
Cod	2 234 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	5 ml
Cod	11 920	5-5-*Natrium diaethylbarbituricum* p.a.	1,03 g
Cod	16 052	*Thymol cryst.* p. a.	0,50 g

Substanţe necesare anual pentru scara Kingsbury

Cod	1 517	*Acidum sulfuricum* D=1,84 (—As) p.a.	16 g
		sau	
Cod	18 100	*Acidum sulfuricum* N/5	800 ml
Cod	5 036 +)	*Calcium chloratum* pt. a.	1,50 g

g) *Reacţia Gross*

Reactivi : soluţie Hayem.

Prepararea soluţiei Hayem

Biclorură de mercur	0,5 g
Clorură de sodiu	2 g
Sulfat de sodiu	5 g
Apă distilată pînă la	200 ml

Tehnică. Într-un tub de hemoliză se pune 1 ml de ser sanguin, se adaugă, dintr-o microbiuretă, soluţie Hayem, picătură cu picătură, agitînd eprubeta după fiecare picătură. Începînd de la o cantitate de 0,3 ml, la un ser normal începe să apară o uşoară tulbureală, dar care se redizolvă în amestec, după agitare. La un moment dat însă, la o cantitate de soluţie Hayem de 2,5—2,8 ml, această tulbureală nu se mai redizolvă. Este aşa-numita graniţă inferioară de floculaţie, adică momentul cînd precipitatul format nu mai este reversibil.

Rezultate. Se exprimă în mililitri de soluţie Hayem întrebuinţată pentru obţinerea precipitatului ireversibil, normal între 2,3 şi 2,8 ml. În serurile disproteinemice precipitatul ireversibil se obţine cu cantităţi mai mici de soluţie Hayem.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	8 716 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst.* p. a.	0,75 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	3 g
Cod	12 360 +)	*Natrium sulfuricum siccum* pt. a. . .	7,50 g

h) *Reacţia Takata-Ara*

I. Metoda în 8 eprubete

Reactivi : soluţie clorurosodică izotonică 9 g‰ ; soluţie de carbonat de sodiu anhidru 10 g% ; soluţie de sublimat corosiv 0,5 g% ; soluţie de fucsină *bazică* 0,02 g%.

Scanned with OKEN Scanner

Prepararea reactivului Takata

Sublimat corosiv soluție 0,5% 3 ml
Fucsină bazică soluție 0,02% 3 ml
Amestecul se face extemporaneu.

Tehnică. Într-o serie de 8 eprubete de hemoliză se pune cîte 1 ml de soluție clorurosodică izotonică. În prima eprubetă se mai adaugă 1 ml ser sanguin ; se amestecă barbotînd, suflînd prin pipetă ; se ia 1 ml din diluție și se trece în eprubeta a doua ; se amestecă barbotînd, se ia 1 ml și se trece în eprubeta următoare. Se procedează astfel pînă la ultima eprubetă, din care, după amestec, se aruncă 1 ml. Se obțin astfel diluții ale serului de 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32, 1/64 1/128 și 1/256. Se adaugă apoi în fiecare eprubetă 0,25 ml din soluția de carbonat de sodiu 10% și 0,30 ml din reactivul Takata. Se agită apoi eprubetele pentru a omogeniza. Rezultatul se citește imediat, la o oră și la 24 de ore. Se înseamnă cu + eprubetele în care s-a produs un precipitat care, după agitare, rămîne încă în suspensie. Eprubetele în care se produce doar o tulbureală se înseamnă cu ±.

Rezultate. Serurile normale nu precipită în nici una dintre eprubete sau, cel mult, apare o ușoară tulbureală în eprubetele 5 și 6. Serurile disproteinemice dau un precipitat în cel puțin 2—3 eprubete consecutive. Rezultatul reacției este slab pozitiv (+), pozitiv (++) sau intens pozitiv (+++), după numărul eprubetelor în care, după agitare, rămîne un precipitat.

Iată cum se formulează un rezultat pozitiv :

Nr. eprubetei	1	2	3	4	5	6	7	8
imediat	—	—	—	±	+	+	+	—
la o oră	—	—	±	+	+	+	+	±
la 24 de ore	—	—	—	+	+	+	+	±

Reacția Takata pozitivă (++)

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 8 716 A *Hydrargyrum bichloratum cryst.* p. a. 0,8 g
Cod 11 843 B *Natrium carbonicum anhydricum* p. a. 25 g
Cod 11 862 *Natrium chloratum* pt. a. . . . . 12 g
Cod 19 626 *Fuchsin basicum* . . . . . 0,03 g

II. Metoda fotometrică

Reactivi : soluție clorurosodică izotonică 9 g% ; soluție de carbonat de sodiu 10 g% ; soluție de sublimat 0,25 g%.

Tehnică. Într-o eprubetă obișnuită se pune 0,1 ml ser peste care se adaugă 5 ml soluție clorurosodică, 0,4 ml soluție de carbonat de sodiu și 0,5 ml soluție de sublimat. Se amestecă. Se citește la fotometrul Pulfrich, în cuva de 1 cm, cu filtrul S 66, avînd ca martor apa distilată, pe o scară de absorbție (neagră) a tamburului.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultate. Cifra de lectură constituie rezultatul reacţiei. Chiar serurile normale pot da rezultate între 100 şi 80. Între 80 şi 70, rezultatul este subpozitiv ; între 70 şi 50, slab pozitiv (+) ; între 50 şi 30, pozitiv (++) ; iar sub 30, intens pozitiv (+++).

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 8 716 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst.* p. a.	0,20 g
Cod 11 843 B	*Natrium carbonicum anhydricum* p. a.	6 g
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	6 g

i) *Testul Wunderly-Wuhrmann cu sulfat de cadmiu*

Reactivi : soluţie de sulfat de cadmiu 0,4 g % ; reactivul se conservă timp îndelungat.

Tehnică. Într-o eprubetă de hemoliză se pune 0,4 ml de ser proaspăt; se adaugă 0,2 ml din soluţia de sulfat de cadmiu echivalent cu 2 picături ; se agită scuturînd de 2—3 ori eprubeta. În cazul unei reacţii pozitive, imediat sau cel mai tîrziu în răstimp de 5 minute apare o tulbureală mai mult sau mai puţin intensă, care în cazurile de disproteinemie intensă poate fi chiar o adevărată floculare. Serurile normale nu dau tulbureală ; reacţia trebuie citită pînă la maximum 5 minute de la picarea reactivului.

Rezultate. Se înseamnă cu ±, +, ++, +++, după intensitatea tulburelii. Flocularea şi sedimentarea precipitatului la fundul eprubetei se înseamnă cu ++++.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 4 683 +)	*Cadmium sulfuricum* pt. a.	0,1 g

j) *Testul Kunkel cu sulfat de zinc*

Reactivi : — soluţie tampon la pH 7,2 de veronal — veronal sodic.

Prepararea tamponului pH 7,2 :

veronal	0,280 g
veronal sodic	0,210 g
apă distilată pînă la	1 000 ml
Se adaugă sulfat de zinc	0,024 g

Tehnică. Într-o eprubetă se pun 0,05 ml ser peste care se adaugă 3 ml reactiv. Se agită, se lasă 30 de minute şi apoi se citeşte la fotometrul Pulfrich în cuva de 5 mm cu filtrul S-47, avînd ca martor soluţia de sulfat de zinc. Lectura se face pe scara de absorbţie (neagră) a tamburului. Cifra de lectură se scade din 1 000. Restul reprezintă rezultatul examenului.

Rezultate. La normal acest rezultat poate ajunge pînă la cifra 30. Cu cît cifra este mai mare, cu atît disproteinemia este mai accentuată.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 729	5-5-*Acidum diaethylbarbituricum* p. a.	0,140 g
Cod 11 920	5-5 *Natrium diaethylbarbituricum* p. a.	0,100 g
Cod 17 398 +)	*Zincum sulfuricum* pt. a.	0,015 g
Cod 21 273	*Papier Indikator pH 6,6—8 cum Farbskala*	50 de benzi

k) *Testul Kunkel cu sulfat de cupru*

Reactivi : soluţie mamă de sulfat de cupru 0,23 g la litru.

Prepararea soluţiei

Pentru reacţie se întrebuinţează o soluţie de 10 ori mai slabă (preparată la balon cotat). Această soluţie nu se păstrează decît 2—3 zile.

Tehnică. Aceeaşi ca la testul cu sulfat de zinc, soluţia de sulfat de zinc fiind înlocuită cu soluţia diluată de sulfat de cupru.

Rezultate. Valoarea normală variază pînă la cifra 15.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 6 032	*Cuprum sulfuricum anhydricum* p. a.	0,015 g

l) *Testul Gaté-Papacostas, Kürten de formolgelificare*

Reactivi : formol 40%.

Tehnică. La 1 ml ser sanguin se adaugă 2 picături de formol 40%, se agită uşor. Rezultatul se citeşte la 10 minute, la 3 ore şi la 24 de ore, observînd dacă s-a produs gelificare, care se constată prin faptul că eprubeta în care s-a făcut reacţia poate fi răsturnată cu gura în jos, fără ca conţinutul ei să curgă afară. În 10—15% din cazuri, gelificarea se întovărăşeşte de o opacifiere a serului.

Se înseamnă cu +++ gelificarea obţinută pînă la 10 minute, cu ++ aceea obţinută pînă la 3 ore şi cu + cea obţinută abia la 24 de ore.

Rezultate. Serul normal nu dă gelificare.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	20 ml

m) *Testele Kunkel*

S-au descris două tehnici ale acestei reacţii numite Kunkel 6 şi Kunkel 12, după concentraţia în clorură de sodiu a diluentului fenolului.

Reactivi. Pentru reacţia Kunkel 6 : fenol ; soluţie clorurosodică 6%. Pentru reacţia Kunkel 12 : fenol ; soluţie clorurosodică 12%.

Scanned with OKEN Scanner

Prepararea soluţiilor

Kunkel 6
Fenol . . . . . 1 g
Soluţie clorurosodică 6% 100 ml
Kunkel 12
Fenol . . . . . 1 g
Soluţie clorurosodică 12% 100 ml

Tehnică. În eprubeta de hemoliză se pipetează 0,1 ml ser. Se adaugă 1,7 ml din reactivul fenolic Kunkel 6 sau Kunkel 12. Se agită uşor printr-o simplă răsturnare a tubului. Se lasă în repaus 30 de minute; apoi se citeşte la fotometrul Pulfrich, folosind cuva de 0,5 cm şi filtrul S 53, avînd ca martor soluţiile Kunkel 6 sau Kunkel 12, fără adaos de ser. Rezultatul se citeşte pe scara de extincţie (roşie) a tamburului. Cifra obţinută înmulţită cu 100 reprezintă unităţile fotometrice.

Rezultate: La normal, valorile reacţiei Kunkel 6 variază între 6 şi 25 de unităţi, cu o medie de 15 unităţi; reacţia Kunkel 12 dă valori normale între 15 şi 50 de unităţi, cu o medie de 25 de unităţi.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 581 *Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . . 5 g
Cod 11 862 *Natrium chloratum* pt. a. . . . . 40 g

n) *Banda de coagulare Weltmann*

Reactivi: soluţie de clorură de calciu cristalizat 0,986 5 g la %. Soluţia corespunde la 0,5 g clorură de calciu anhidră la litru. Se controlează prin titrare cu nitrat de argint şi trebuie să fie exact ajustată.

Tehnică. Reacţia se face în 12 eprubete, numerotate de la 1 la 12. Începînd cu eprubeta 1 din stînga, se pun în primele 11 eprubete cantităţi din ce în ce mai mici din soluţia de clorură de calciu şi anume 5 — 4,5 — 4,0 — 3,5 — 3 — 2,5 — 2 — 1,5 — 1,2 — 0,9 şi 0,6 ml. Se adaugă apoi, începînd de la eprubeta 2, apă distilată pentru completarea volumului de 5 ml, respectiv 0,5 — 1,0 — 1,5 — 2 — 2,5 — 3 — 3,5 — 3,8 — 4,1 şi 4,4 ml. În eprubeta 12 se pun 5 ml de apă distilată. Se adaugă în fiecare eprubetă cîte 0,1 ml de ser, se agită şi se ţine la baie la 100°,15 minute. Eprubetele se scot din baie şi se citeşte reacţia.

Rezultate. În cazul serurilor normale, în primele 5—6 eprubete, la o concentraţie în clorură de calciu mai mare de 0,25 g‰, apar mici coaguli. Se formează o bandă de coagulare, corespunzînd primelor 5—6 eprubete. Cu serurile patologice se poate obţine fie o scurtare a benzii, cum se întîmplă în procesele inflamatoare (deviere la stînga), fie o alungire a benzii, cum se întîmplă în procesele fibrosclerozante (deviere la dreapta). Nu se consideră pozitive tuburile în care se formează doar o tulbureală, fără formare de cheaguri.

Această tehnică poate servi şi la determinarea curbei nefelometrice a proteinelor Wuhrmann—Wunderly.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 5 037 A *Calcium chloratum Sörensen cryst.* p. a. . . . . 40 g

b) *Viteza de sedimentare a eritrocitelor* (Westergreen)

Reactivi : Soluţie de citrat de sodiu 3,8%, sterilizată.

Tehnică. Se recoltează sînge pe soluţia de citrat, în proporţie de o parte anticoagulant şi 4 părţi sînge. În general recoltarea se face în seringă sterilă de 2 ml, în care se ia soluţie de citrat pînă la 0,4 ml şi apoi se recoltează din venă sînge pînă la 2 ml. Sîngele trebuie recoltat fără stază. Se trece amestecul de citrat şi sînge într-o eprubetă şi se amestecă uşor.

Apoi amestecul se trage în pipetele Westergreen, divizate în 200 mm, pînă la marca O ; pipetele se fixează în stativul Westergreen. La o oră, la 2 ore şi la 24 de ore se citeşte nivelul la care se află limita dintre hematiile sedimentate şi plasma amestecată cu soluţia citrată.

Rezultate. La bărbat — la 1 oră : 3— 6 mm
la 2 ore : 9—12 mm
la 24 de ore : 30—35 mm

la femeie — la 1 oră : 7—10 mm
la 2 ore : 12—15 mm
la 24 de ore : 35—40 mm

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 11 900 +) *Natrium citricum tribasicum* chimic pur . . . . . 2 g

2. DOZAREA UREEI (METODA AZOTOMETRICĂ KOWARSKI)

Reactivi : soluţia Kowarski ; soluţia de hipobromit de sodiu ; alcool 96% ; soluţie de acid tricloracetic 10%.

Prepararea soluţiilor

Soluţia Kowarski

Sulfat de potasiu	150 g
Clorură de sodiu	350 g
Apă de robinet pînă la . . .	1 000 ml

Se fierbe 10—15 minute, se răceşte şi apoi se filtrează.

Soluţia hipobromit de sodiu

Soluţie de hidroxid de sodiu 33%	6 ml
Brom	12 picături

Tehnică. Se defecă 4—5 ml ser sanguin sau sînge total, recoltat pe fluorură de sodiu sau heparină, cu o cantitate egală de soluţie de acid tricloracetic. Se filtrează.

Ureometrul Alin Popescu sau Kowarski se umple cu soluţie Kowarski ; cupa lui se spală de 2—3 ori cu apă distilată ; se pun în

Scanned with OKEN Scanner

cupă 3 ml din filtrat, din care se lasă să treacă în ureometru 2,5 ml. Se spală cupa de 2—3 ori cu apă distilată şi apoi se pun 5 ml din soluţia de hipobromit de sodiu, din care se lasă să treacă în aparat 4,5 ml. În aparat se degajă azotul şi bioxidul de carbon ; ultimul este fixat de hidroxidul în exces din hipobromit, iar azotul se strînge la partea superioară a ureometrului, sub robinetul cupei. Cîteodată lectura diviziunilor de pe aparat este îngreuiată de formarea de spumă. Pentru a o înlătura, se lasă să treacă în aparat cîteva picături de alcool, pus în prealabil în cupă.

Cantitatea de azot degajat, exprimată în mililitri, înmulţită cu 2 şi cu 1 000, ne dă cu mică aproximaţie, cantitatea de uree în miligrame la litrul de ser sau sînge.

Pentru rezultate exacte se foloseşte un tabel de corectare pentru presiunea barometrică şi temperatură.

Dacă se foloseşte filtrat mai mult sau mai puţin, la calcularea rezultatului se va avea în vedere corectura necesară, coeficientul 2 corespunzînd numai pentru dozarea din 2,5 ml de filtrat.

Rezultate. Ureea sanguină variază între 0,20 şi 0,50 g‰.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 9 856 +)	*Kalium sulfuricum* pt. a.	350 g
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	800 g

Dacă se întrebuinţează aparatul Kowarski original, cantităţile de mai sus sînt de 2—3 ori mai mari.

Cod 1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a. . . .	60 g
Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	200 ml
Cod 4 287	*Bromum* p. a.	15 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. .	200 g

3. DOZAREA ACIDULUI URIC (METODA FOLIN-DENIS)

Reactivi : soluţie de acid tricloracetic 10% ; soluţie standard de acid uric ; soluţie de carbonat de sodiu 20% ; soluţie de sulfat de litiu 20% ; reactivul fosfotungstic.

Prepararea soluţiilor

Soluţie standard de acid uric se prepară dizolvînd 1 g de acid uric ţinut 48 de ore la exsicator, în 150 ml apă care conţine 0,5 g carbonat de litiu la litru. Dizolvarea se face la 60°. După răcirea soluţiei se adaugă 300 ml apă bidistilată, 25 ml formol 40% şi 3 ml acid acetic glacial. Apoi se completează cu apă pînă la 1 000 ml.

Pentru lucru se prepară din această soluţie, o soluţie de 20 de ori mai diluată, la balon cotat — 1 ml la 20. Această soluţie etalon conţine deci 50 mg la mie acid uric, adică 0,05 mg pe mililitru. Soluţia etalon de lucru se alterează uşor, de aceea trebuie preparată proaspătă cel puţin o dată pe săptămînă.

Reactiv fosfotungstic. Se prepară din 25 g tungstat de sodiu, 20 ml acid fosforic 85% şi apă bidistilată pînă la 200 ml. Se fierbe într-un balon cu refrigerent cu reflux timp de 4 ore. Dacă lichidul este verde, se adaugă 1—2 picături de brom şi apoi se fierbe din nou fără refrigerent, pînă se evaporă tot bromul. Reactivul trebuie să fie incolor. Se aduce totul la 250 ml. Înainte de întrebuinţare se diluează în părţi egale cu soluţia de sulfat de litiu.

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică. Se pun într-o eprubetă 2 ml de ser sanguin şi se adaugă 6 ml din soluţia de acid tricloracetic. Se agită şi se filtrează. Din filtrat se pun într-o eprubetă 2 ml. Lucrăm deci pe 0,5 ml ser. Se adaugă 3 ml din soluţie de carbonat de sodiu şi 1 ml din reactivul fosfotungstic diluat cu sulfat de litiu.

Etalonul se prepară din soluţia etalon de acid uric 50 mg la mie, din care se ia 1 ml, peste care se adaugă 3 ml de soluţie de acid tricloracetic 10%. Se agită şi din amestec se iau 2 ml care se pun într-o eprubetă. Aceştia conţin 0,025 mg de acid uric. În această eprubetă se mai adaugă, ca peste filtratul de ser, aceleaşi cantităţi de soluţie de carbonat de sodiu şi de reactiv fosfotungstic.

După 10—15 minute se colorimetrează la colorimetrul Dubosque. Calculul se face după formula :

$$\frac{\text{Înălţime etalon}}{\text{Înălţime ser}} \times 50 = \text{miligrame de acid uric la mie}$$

Rezultate. Acidul uric seric variază între 25 şi 50 mg‰.

Pentru colorimetrare se poate întrebuinţa şi fotometrul Pulfrich sau un fotocolorimetru cu celulă fotoelectrică, după ce în prealabil s-a stabilit o curbă cu soluţii de concentraţii cunoscute de acid uric. Recomandăm filtrul S_{61} şi ca lichid martor apa distilată.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 366	*Acidum phosphoricum* 85% D = 1,71 p. a.	8 ml
Cod 1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a. . . .	80 g
Cod 4 287	*Bromum* p. a.	1 ml
Cod 10 374	*Lithium sulfuricum* p. a.	20 g
Cod 11 847 +)	*Natrium carbonicum siccum* pt. a. .	100 g
Cod 12 235	*Natrium phosphowolframicum* p. a. .	10 g

Pentru soluţia standard (anual)

Cod 139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	5 ml
Cod 1 640	*Acidum uricum* p. a.	1,5 g
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	30 ml
Cod 10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a. . .	1 g

4. DOZAREA CREATININEI (METODA LIEB-ZACHERL)

Reactivi : soluţie de tungstat de sodiu 10% ; soluţie de acid sulfuric 2/3 N ; soluţie saturată la cald de acid picric 1,2 g% ; soluţie de hidroxid de sodiu 2% ; soluţie standard de creatinină.

Prepararea soluţiei standard de creatinină. Se prepară din creatinină 0,1 g. soluţie de acid clorhidric N/10 10 ml la care se adaugă cîteva picături de cloroform. Se aduce apoi la balon cotat la 100 ml cu apă bidistilată. Soluţia conţine 1 mg creatinină la mililitru. Pentru lucru, se prepară o soluţie etalon de 100 de ori mai diluată, conţinînd deci 0,01 mg la mililitru.

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică. Se pun 2 ml ser în 14 ml apă bidistilată, 2 ml de soluție tungstat și 2 ml din soluția de acid sulfuric. Serul defecat se filtrează. Din filtrat se iau 10 ml (corespunzînd la 1 ml ser) se adaugă 1 ml din soluția de acid picric și 1 ml din soluția de hidroxid de sodiu ; se lasă 30—60 de minute, după conținutul în creatinină. Apoi se adaugă 8 ml de apă bidistilată.

Se fac 2 reacții martor, respectiv cu 2 ml și 4 ml din soluția etalon (0,02 și 0,04 mg creatinină) peste care se adaugă cîte 2 ml de soluție de acid picric și 2 ml de soluție de hidroxid de sodiu. Apoi se completează cu apă pînă la 20 ml, respectiv 14 și 12 ml. Se colorimetrează la colorimetrul Dubosque, cu reacția etalon de colorare mai apropiată.

Calculul se face după formulele :

pentru conținut de 0,02 mg soluție etalon

$$\frac{\text{înălțime etalon}}{\text{înălțime ser}} \times 2 = \text{mg } \% ;$$

pentru conținutul de 0,04 mg soluție etalon

$$\frac{\text{înălțime etalon}}{\text{înălțime ser}} \times 4 = \text{mg } \%.$$

Colorimetrarea se poate face și la fotometrul Pulfrich sau la un fotocolorimetru cu celulă fotoelectrică, după ce în prealabil s-a stabilit curba de referință. Se recomandă filtrul S_{53}.

În acest caz, substanțele necesare se reduc la o treime ; de asemenea după construirea curbei, nu mai este nevoie de soluția standard de creatinină.

Rezultate. Serul normal conține 1—2 mg creatinină la 100 ml.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 397	*Acidum picricum* p. a.	8 g
Cod 1 521 A	*Acidum sulfuricum anh.* p. a.	120 g
	sau	
Cod 18 106	*Acidum sulfuricum* N/10	200 ml
Cod 5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	1 ml
Cod 5 865	*Creatininum* p. a.	0,01 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	15 g
Cod 12 429	*Natrium wolframicum* p. a. . . .	25 g
Cod 18 034	*Acidum hydrochloricum* N/10 . . .	1 ml

5. DOZAREA GLICEMIEI

a) *Metoda Denigès, modificată de Alin-Popescu*

Reactivi : soluțiile Fehling I și II ; soluție de ferocianură de potasiu 5 g% ; soluție de glucoză anhidră 0,5 g% ; soluție defecantă Denigès ; soluție de hidroxid de sodiu 33% ; fragmente mici de piatră ponce sau porțelan, eventual de sticlă ; fluorură de sodiu.

Scanned with OKEN Scanner

Prepararea soluțiilor

Soluția Fehling I și II
(vezi examenul calitativ al urinii, pentru glucoză).
Soluția defecantă Denigès
Soluția se prepară din clorură de sodiu 290 g, dizolvată în 1 000 ml apă distilată, la care se adaugă 100 ml de acid acetic glacial.

Tehnică. Din sîngele recoltat pe un anticoagulant și antiglicolitic (fluorură de sodiu) se iau 4 sau 5 ml și se pun într-o eprubetă mai mare (18—180); se adaugă respectiv 8 sau 10 ml din defecantul Denigès; se diluează astfel sîngele 1/3. Se amestecă și apoi se pune eprubeta în apă clocotindă și se fierbe 5—10 minute. Se răcește apoi la robinet și se filtrează.

Pentru dozare, se iau 0,5 ml soluție Fehling, recent preparată și titrată cu soluția de glucoză, 0,5%, în prezența ferocianurii de potasiu, se pun într-o eprubetă, se adaugă 1 ml soluție hidroxid de sodiu 33%, 4—5 ml apă distilată, 5—6 picături din soluția de ferocianură de potasiu (sau un vîrf de briceag de ferocianură în substanță) și 2—3 bucățele de piatră ponce, pentru omogenizarea fierberii.

Eprubeta, ținută cu un clește pentru eprubete, este menținută la o flacără mică, pînă clocotește. Se adaugă apoi din filtratul de sînge, dintr-o pipetă de 2 ml divizată în 200, picătură cu picătură. Soluția Fehling, albastră, se decolorează, apoi, la sfîrșitul reacției, se îngălbenește și ulterior devine negricioasă. Se citește numărul de mililitri de filtrat sanguin necesari pentru reducerea soluției Fehling.

Se calculează după formula :

$$\frac{\text{Titrul soluției Fehling (la volumul întrebuințat)}}{\text{Volumul de filtrat întrebuințat în mililitri}} \times 3 \text{ (diluția)} \times$$

$$\times\ 1\,000 = \text{glicemia în miligrame } ‰.$$

În caz cînd nu avem 4 ml de sînge, dozarea se poate face pe filtrat din diluții mai mari de sînge, anume :

3 ml sînge și 9 ml defecant — diluție 1/4 ;
2 ml sînge și 8 ml defecant — diluție 1/5 ;
1 ml sînge și 9 ml defecant — diluție 1/10.

În aceste cazuri se va ține seama, la calcularea rezultatului, de diluția respectivă.

Rezultate. 0,80—1,20 g ‰.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	130 g
Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	1 ml
Cod	6 032	*Cuprum sulfuricum anhydricum* p. a.	2 g
Cod	8 094	*Glucose anhydricum* p. a.	1 g
Cod	9 641 +)	*Kalium ferro cyanatum* p. a.	10 g
Cod	9 732 +)	*Kalium natricum tartaricum* p. a. . .	10 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	350 g
Cod	11 952	*Natrium fluoratum* p. a.	20 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	45 g

b) *Micrometoda Hagedorn-Jensen*

Reactivi : hidroxid de sodiu, soluţie N/10 ; soluţie mamă de sulfat de zinc 45 g % ; soluţie de fericianură de potasiu ; soluţie de sulfat de zinc ; soluţie de iodură de potasiu 12,5 g‰ ; soluţie de acid acetic 3 ml % ; soluţie de amidon 1 %.

Prepararea soluţiilor

Soluţia sulfat de zinc 0,45 %

Soluţia mamă se diluează de 100 de ori, concentraţia finală devenind 0,45 g%.

Soluţia de fericianură de potasiu

Fericianură de potasiu	1,65 g
Carbonat de sodiu anhidru . .	10,6 g

Apă bidistilată pînă la 1 000 ml, în balon cotat.

Se păstrează în sticlă brună.

Soluţia de sulfat de zinc

Sulfat de zinc	50 g
Clorură de sodiu	250 g
Apă distilată pînă la	1 000 ml

Pentru reacţie se foloseşte un amestec din 4 părţi din soluţia sulfat de zinc clorură de sodiu şi 1 parte din soluţia de iodură. Amestecul se păstrează în sticlă brună şi trebuie preparat zilnic sau cel mult la 2—3 zile, pentru că degajează iod.

Soluţia de amidon 1 %

Se dizolvă 1 g amidon în aproximativ 5 ml apă, încălzind uşor şi apoi se adaugă pînă la 100 ml de soluţie saturată de clorură de sodiu.

Soluţia de tiosulfat de sodiu N/200

Se prepară din soluţia N/10, ducînd 5 ml în balon cotat la 100 ml de apă distilată. Soluţia mamă conţine 24,805 g tiosulfat de sodiu cu 5 molecule apă.

Soluţia de iodat de potasiu N/200

Se prepară dizolvînd 0,356 6 g iodat uscat la balon cotat, la 2 000 ml apă bidistilată. Soluţia serveşte la stabilirea titrului soluţiei de tiosulfat.

Stabilirea titrului tiosulfatului. 2 ml din soluţia N/200 de iodat (măsuraţi cu pipetă cu bulă) se pun într-un pahar Erlenmeyer de 50 ml, se adaugă 2 ml soluţie acid acetic 3% (6) şi 2 ml din amestecul sulfat de zinc — clorură de sodiu — iodură de potasiu (4+5) şi 2 picături din soluţia de amidon (7). Amestecul se colorează în albastru. Se titrează din microbiuretă cu soluţia N/200 de tiosulfat (9), pînă la dispariţia coloraţiei albastre. Se fac 2—3 probe şi pentru titru se ia cifra medie. Pentru soluţii corect efectuate titrul este aproape 2. Stabilirea factorului se face împărţind cifra 2 la titrul stabilit.

Tehnică. Pentru fiecare examen se execută cîte 2 probe ; de asemenea pentru dozările dintr-o zi se face şi o probă dublă albă, în care se pun toţi reactivii, afară de sînge.

În eprubetă se pun 1 ml hidroxid de sodiu N/10 şi 5 ml soluţie sulfat de zinc 0,45 %. Cu o pipetă capilară se recoltează 0,1 ml sînge din pulpa degetului (sau se măsoară din sînge recoltat în prealabil pe fluorură de sodiu) şi se adaugă în eprubetă, spălînd pipeta de cîteva ori cu soluţia coloidală de sulfat de zinc. Se agită, se fierbe 3 minute în baia clocotindă şi se filtrează încă la cald, prin pîlnii şi filtre mici (diametru 3—4 cm) în eprubeta Hagedorn (diametru 30 mm, înălţime 100 mm). Filtrele se mai spală de 2 ori cu cîte 3 ml apă distilată caldă ; după ce lichidul s-a scurs complet, se presează încă uşor filtrele. Filtratul limpede, la care se adaugă 2 ml soluţie de fericianură (3) (măsuraţi cu pipeta cu bulă !) se fierbe la baie timp de 15 minute, apoi se răceşte la robinet. Se adaugă în urmă 2 ml de amestec de sulfat de zinc — clorură de sodiu — iodură de potasiu (4 + 5), 2 ml de soluţie de acid acetic 3% (6) şi 2 picături de amidon. Se titrează cu tiosulfat de sodiu N/200 pînă la dispariţia culorii albastre.

Scanned with OKEN Scanner

Cantitatea de tiosulfat întrebuinţată se înmulţeşte cu factorul de corectură. Se caută în tablou corespondentul în glucoză a tiosulfatului de sodiu N/200 întrebuinţat, exprimat în grame la sută, şi corectat cu factorul. Din această cifră se scade corespondentul probei albe (de obicei la proba albă se întrebuinţează 1,95—1,97 ml de tiosulfat).

Rezultate. Corespund valorii glicemiei în miligrame la sută.

Tabel pentru calcularea glicemiei (metoda Hagedorn-Jensen)

Mililitrii de tiosulfat de sodiu N/200 corespund la miligrame de glucoză %.

	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
0,0	385	382	379	376	373	370	367	364	361	358	0,0
0,1	355	352	350	348	345	343	341	338	336	333	0,1
0,2	331	329	327	325	323	321	318	316	314	312	0,2
0,3	310	308	306	304	302	300	298	296	294	292	0,3
0,4	290	288	286	284	282	280	278	276	274	272	0,4
0,5	270	268	266	264	262	260	259	257	255	253	0,5
0,6	251	249	247	245	243	241	240	238	236	234	0,6
0,7	232	230	228	226	224	222	221	219	217	215	0,7
0,8	213	211	209	208	206	204	202	200	199	197	0,8
0,9	195	193	191	190	188	186	184	182	181	179	0,9
1,0	177	175	173	172	170	168	166	164	163	161	1,0
1,1	159	157	155	154	152	150	148	146	145	143	1,1
1,2	141	139	138	136	134	132	131	129	127	125	1,2
1,3	124	122	120	119	117	115	113	111	110	108	1,3
1,4	106	104	102	101	099	097	095	093	092	090	1,4
1,5	088	086	084	083	081	079	077	075	074	072	1,5
1,6	070	068	066	065	063	061	059	057	056	054	1,6
1,7	052	050	048	047	045	043	041	039	038	036	1,7
1,8	034	032	031	029	027	025	024	022	020	019	1,8
1,9	017	015	014	012	010	008	007	005	003	002	1,9

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	12 ml
Cod 3 210	*Amylum solubile* p. a.	1 g
Cod 9 639	*Kalium ferri cyanatum* p. a.	1,5 g
Cod 9 695 b	*Kalium jodatum* p. a.	1,2 g
Cod 9 700	*Kalium jodicum* p. a.	0,2 g
Cod 11 843 B	*Natrium carbonicum anhydricum* p. a.	15 g
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	250 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	2 g
	sau	
Cod 18 504	*Natrium hydricum* N/10	400 ml
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	1,5 g
	sau	
Cod 18 556	*Natrium thiosulfuricum* N/10	20 ml
Cod 17 398 +)	*Zincum sulfuricum* pt. a.	50 g

Scanned with OKEN Scanner

c) *Metoda colorimetrică Folin-Wu*

Reactivi : soluţie de tungstat (wolframat) de sodiu 10 g % ; soluţie de acid sulfuric N/12 ; reactiv cupric ; reactivul fosfomolibdotungstic ; soluţie standard de glucoză ; fluorură de sodiu.

Prepararea soluţiilor

Soluţie acid sulfuric N/12

Se prepară dintr-o soluţie normală de acid, diluată 1 parte cu 11 părţi apă distilată. Soluţia N de acid sulfuric conţine 49,04 g acid sulfuric la 1 000 ml. Se prepară din 52 g acid sulfuric concentrat 95% dus la 1 000 ml. Titrul se fixează cu o soluţie normală de hidroxid de sodiu, avînd ca indicator o soluţie de metiloranj.

Reactivul cupric

Corbonat de sodiu anhidru	40 g
Acid tartric	7,5 g
Sulfat de cupru cristalizat	4,5 g

Se dizolvă, punînd 400—500 ml apă distilată, şi se aduce apoi la 1 000 ml.

Reactivul fosfomolibdotungstic

Acid molibdenic	35 g
Tungstat de sodiu	5 g
Soluţie de hidroxid de sodiu 10% . .	200 ml
Apă distilată	200 ml

Se fierbe la flacără 30—40 de minute, se răceşte şi apoi se aduce la aproximativ 350 ml. Se adaugă : acid fosforic 85% 125 ml şi apoi pînă la 500 ml apă distilată.

Soluţia standard de glucoză

Se prepară din 1 g glucoză, 1 ml soluţie saturată de acid benzoic (cam 1 g acid benzoic la 270 ml apă) dus la balon cotat la 1 000 ; 1 ml din soluţie conţine 1 mg de glucoză. Din această soluţie, pentru lucru se prepară 2 soluţii etalon, una slabă diluînd 1/10, a doua tare, diluînd 1/5. Soluţiile etalon vor conţine deci respectiv 0,1 şi 0,2 mg pe mililitru.

Tehnică. Sîngele recoltat pe fluorură de sodiu se defecă adăugînd la 1 ml sînge 8 ml de soluţie de acid sulfuric N/12. Se mai adaugă agitînd 1 ml din soluţia de tungstat. Se filtrează.

Din filtrat se iau 2 ml (deci corespondentul a 0,2 ml sînge) şi se pun într-un tub special Folin care are o marcă la volumul de 25 ml. Se adaugă 2 ml din reactivul cupric. Se ţine în baia clocotindă 7 minute şi apoi se răceşte la robinet. Se adaugă 2 ml din reactivul fosfomolibdotungstic şi apoi, după un minut, se adaugă apă pînă la semnul 25 ml. Se amestecă.

Se procedează la fel cu cele 2 soluţii etalon, slabă şi tare, de lucru.

Se colorimetrează la colorimetrul Dubosque, luînd ca martor soluţia etalon cea mai apropiată ca culoare.

Pentru calcul ne servim de formulele :

— cu etalon slab : $\frac{\text{Înălţime etalon}}{\text{Înălţime sînge}} \times 100 = \text{mg glucoză \%}$

— cu etalon tare : $\frac{\text{Înălţime etalon}}{\text{Înălţime sînge}} \times 200 = \text{mg glucoză \%}$

Colorimetrarea se poate face şi la fotometrul Pulfrich sau la fotocolorimetru cu soluţie fotoelectrică, după ce în prealabil s-a stabilit curba cu soluţii de concentraţii cunoscute de glucoză.

Scanned with OKEN Scanner

În acest caz, substanţele necesare scad la o treime din cele indicate mai sus, iar soluţia de glucoză, după stabilirea curbelor, nu mai este necesară.

Pentru colorimetrare la fotometre recomandăm filtrul S_{61}, iar, ca lichid martor, apă distilată.

Rezultatele corespund valorii glicemiei în miligrame la sută.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	495	*Acidum benzoicum* p. a.	0,50 g
Cod	1 094	*Acidum molibdaenicum* p. a.	45 g
Cod	1 366	*Acidum phosphoricum* 85 % D = 1,71 p. a.	150 ml
Cod	1 546	*Acidum tartaricum cryst.* p. a. . . .	6 g
Cod	6 030 +)	*Cuprum sulfuricum oxydatum* pt. a. .	4 g
Cod	8 094	*Glucose anhydricum* p. a.	1 g
Cod	11 843 B	*Natrium carbonicum anhydricum* p. a.	30 g
Cod	11 952	*Natrium fluoratum* p. a.	20 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis p. a.* . .	25 g
Cod	12 429	*Natrium wolframicum* p. a.	45 g
Cod	18 096	*Acidum sulfuricum* N/1	25 ml

6. DOZAREA COLESTEROLULUI

a) *Dozarea colesterolului total (metoda Grigaut)*

Reactivi : soluţie de alcool sodat ; eter sulfuric.

Prepararea soluţiilor

Soluţia de alcool sodat. Se prepară din alcool de 60° la care se adaugă 0,5 g de hidroxid de sodiu la 100 ml. Alcoolul de 60° se prepară adăugînd, la 100 ml alcool 95°, 63 ml de apă distilată.

Tehnica de extracţie. Într-o pîlnie specială — pîlnie Grigaut — se măsoară 2 ml de ser şi se adaugă 13 ml de alcool sodat şi se agită, după astuparea pîlniei cu dopul respectiv, uşor, prin răsturnare. Se adaugă 15 ml de eter, se astupă pîlnia şi se mai agită încă de cîteva ori ca mai sus. Întreg colesterolul trece în eter.

Pîlnia se lasă în repaus, în poziţie verticală. După 12—20 de minute, se separă două straturi, unul jos, apos, altul sus, eteric. Se scurge prin dopul pîlniei apa. Eterul se spală cu apă de 2—3 ori, adăugînd-o pînă la semnul superior al pîlniei, agitînd uşor şi evacuînd-o prin dopul inferior al pîlniei.

După ultima spălare eterul conţinînd colesterolul se trece într-o capsulă de porţelan, iar pîlnia se mai spală de 2—3 ori cu mici cantităţi de eter, care se prind toate în capsulă. Eterul se evaporă lent, pe o baie de nisip, iar dacă a mai rămas o porţiune de apă, se îndepărtează şi aceasta printr-o încălzire la o temperatură mai mare. Pe fundul capsulei rămîne doar un reziduu grăsos în care se află şi colesterolul.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de extracţii)

Cod	1 774	*Aether aethylicus anhydricus* p. a. .	4 000 ml
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	900 ml
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	15 g

b) *Dozarea colesterolului extras*

Reactivi : cloroform ; anhidridă acetică ; acid sulfuric concentrat ; soluţie etalon de colesterol 0,06 g % în cloroform.

Tehnică. Reziduul obţinut în tehnica anterioară pe fundul capsulei se dizolvă în 2 ml cloroform şi se trece într-o eprubetă gradată Grigaut, cu dop rodat. Se mai repetă reluarea reziduului cu cloroform, pînă la o cantitate totală de 5 ml. În altă eprubetă Grigaut se măsoară 5 ml din soluţia etalon de colesterol. Se pune apoi în ambele eprubete cîte 2 ml de anhidridă acetică şi cîte 4 picături de acid sulfuric. Se închid eprubetele cu dopul respectiv şi se lasă la termostat 20 de minute, la 37° ; după aceea se colorimetrează la colorimetrul Dubosque.

Rezultatul se calculează după formula :

$$\frac{\text{Înălţime etalon}}{\text{Înălţime ser}} \times 150 = \text{mg colesterol la \%}.$$

Colorimetrarea se poate face şi la fotometrul Pulfrich sau la un fotocolorimetru cu celulă fotoelectrică, după ce în prealabil s-au construit curbele de etalonare, plecînd de la soluţii de concentraţie cunoscută de colesterol. Se recomandă filtrul S_{66}.

În acest caz cantităţile de substanţe necesare se vor scădea la jumătate, iar soluţia etalon, o dată curba construită, nu mai este necesară.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	136	*Acidum aceticum anhydricum* p. a. .	450 ml
Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	80 ml
Cod	5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	1 800 ml
Cod	5 628	*Cholesterinum* p. a.	0,35 g

c) *Dozarea colesterolului esterificat (liber)*

Reactivi : reactiv Caminad ; soluţie digitonină 0,5 g %.

Prepararea soluţiilor

Reactiv Caminad

Acetonă	73 ml
Alcool absolut	9 ml
Apă distilată	18 ml

Soluţie digitonină

Digitonină	0,5 g
Reactiv Caminad	100 ml

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică. Extracţia se face ca la colesterolul total. Dacă conţinutul în colesterol al serului este mai mare de 250 mg la 100 ml ser, el va fi diluat în părţi egale cu apă.

Soluţia colesterolului extras în eter se prinde într-un balon Erlenmeyer de 50 ml, în care se va face evaporarea. Peste reziduul grăsos din flaconul Erlenmeyer, ţinut la cald pe o baie de nisip, se adaugă 5 ml din reactivul Caminad ; după ce el s-a dizolvat complet se adaugă 3 ml din soluţia de digitonină şi se agită. Se lasă în repaus 10 minute. Apoi se filtrează cu grijă printr-un filtru mic într-un alt balon Erlenmeyer de 25 ml, spălînd filtrul de 2—3 ori cu mici cantităţi de eter. Se evaporă eterul şi se reia reziduul cu 5 ml cloroform. Dacă soluţia cloroformică mai conţine precipitate de digitonină, se filtrează din nou, se spală filtrul cu mici porţiuni de cloroform şi apoi se evaporă cloroformul. Reziduul se reia în 5 ml de cloroform şi se procedează la obţinerea reacţiei colorate, ca la dozarea colesterolului total, cu deosebirea, că în loc ca soluţia de colesterol standard să fie de 0,06 g %, ea este mai slabă, de 0,04 g %. Şi aici, colorimetrarea se poate face la fotometrul Pulfrich sau la un fotometru cu celulă fotoelectrică.

Rezultatul se calculează după formula :

$$\frac{\text{Înălţime etalon}}{\text{Înălţime ser}} \times 100 = \text{miligrame de colesterol esterificat la \%}$$

Colesterolul liber se deduce scăzînd din colesterolul total pe cel esterificat. Normal colesterolul total variază între 140 şi 250 mg %, 2/3 fiind esterificat.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 774	*Aether aethylicus anhydricus* p. a. .	4 000 ml
Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	900 ml
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	15 g
	Pentru precipitarea colesterolului liber	
Cod 38	*Acetonum* pt. a.	750 ml
Cod 2 336 a	*Alcohol aethylicus absolutus* p. a. . .	100 ml
Cod 6 625	*Digitoninum cryst.* p. a.	2 g
	Pentru dozarea colorimetrică	
Cod 136	*Acidum aceticum anhydricum* p. a. .	450 ml
Cod 1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	80 ml
Cod 5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	4 000 ml
Cod 5 628	*Cholesterinum* p. a.	0,35 g

7. DOZAREA BILIRUBINEI

a) *Dozarea bilirubinei directe* (metoda fotometrică Jendrassik-Cleghorn-Gróf)

Reactivi : soluţie clorurosodică 9 ‰ ; soluţie diazo I ; soluţie diazo II.

Scanned with OKEN Scanner

Prepararea soluţiilor

Soluţia Diazo I

Acid sulfuric soluţie 5%	100 ml
Acid clorhidric concentrat	15 ml
Se adaugă apoi :	
Apă distilată pînă la	1 000 ml

Soluţia Diazo II

Nitrit de sodiu	0,5 g
Apă distilată	100 ml

Pentru reacţie se amestecă 10 ml din soluţia diazo I, cu 0,25 ml din soluţia diazo II, realizîndu-se reactivul diazo Ehrlich.

Tehnică. Se măsoară într-o eprubetă 1 ml de ser peste care se adaugă 3,5 ml de soluţie clorurosodică şi 0,5 ml din reactivul diazo ; se prepară şi un martor în care se pune la 1 ml ser 4 ml de soluţie clorurosodică. După 5 minute reacţia se colorimetrează la fotometrul Pulfrich, în cuva de 1 cm, cu filtrul S_{53}, ca martor servind amestecul de ser şi soluţie clorurosodică.

Rezultatul se calculează după formula :

(Extincţia × 6,34) — 0,05 × 10 = miligrame de bilirubină directă ‰ ser.

b) *Dozarea bilirubinei totale* (metoda fotometrică)

Reactivi : aceiaşi folosiţi la dozarea bilirubinei directe ; în plus soluţie cafeină-benzoat-acetat.

Prepararea soluţiei de cafeină-benzoat-acetat

Cafeină pură	20 g
Benzoat de sodiu	70 g
Acetat de sodiu	50 g
Apă distilată pînă la	400 ml

Tehnică. Se măsoară 1 ml de ser peste care se adaugă 3,5 ml din soluţia de cafeină-benzoat-acetat. Se agită, apoi se adaugă 0,5 din reactivul diazo. Se prepară şi un martor din 1 ml ser, 3,5 ml soluţie cafeină şi 0,5 ml soluţie clorurosodică.

Citirea şi calcularea rezultatului se face la fel ca la dozarea bilirubinei directe.

Serurile intens icterice, înainte de dozare, vor fi diluate cu soluţie clorurosodică. La calculul rezultatelor se va avea în vedere diluţia.

Rezultate. Serul normal conţine între 2 şi 7 mg ‰ bilirubină totală, aproape toată indirectă. Bilirubina indirectă se calculează scăzînd, din bilirubina totală, bilirubina directă.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	242 +)	*Acidum amino benzol sulfonicum para* pt. a.	0,6 g
Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	2 ml
Cod	5 817	*Coffeinum* p. a.	40 g
Cod	11 638 +)	*Natrium aceticum cryst.* pt. a. . . .	50 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	12 g
Cod	11 732	*Natrium benzoicum pulvis* p. a. . . .	30 g
Cod	12 124	*Natrium nitrosum in baccilis* p. a. .	0,05 g

Scanned with OKEN Scanner

c) *Metoda colorimetrică (Hyjmans van den Berg)*

Reactivi : soluţiile diazo I şi diazo II ; alcool de 95% ; soluţie saturată de sulfat de amoniu (vezi prepararea la dozarea gravimetrică a proteinelor serice) ; soluţie standard.

Prepararea soluţiilor

Soluţia saturată de sulfat de amoniu

Într-un pahar de 100 ml apă distilată se pun 85 g sulfat de amoniu. Se încălzeşte pînă la dizolvarea completă. Soluţia se lasă să se răcească şi se ţine cîteva zile la temperatura camerei. La fundul flaconului apar după un timp cîteva cristale. La întrebuinţare se foloseşte numai supernatantul care se controlează cu hîrtia de turnesol să nu fie acid. Se alcalinizează la nevoie cu cîteva picături de amoniac.

Soluţia standard

Se prepară din 2,16 sulfat de cobalt anhidru sau 3,92 g sulfat de cobalt cristalizat cu 7 molecule apă, la 100 ml. Culoarea ei corespunde la o concentraţie de bilirubină de 5 mg la 1 000 ml ser.

Tehnică. Într-o eprubetă de centrifugă se pune 1 ml ser, 0,5 ml reactiv diazo (10 ml diazo I plus 0,30 diazo II), 2,9 ml alcool de 95% şi 1 ml soluţie saturată de sulfat de amoniu. Se amestecă bine şi apoi se centrifughează. Supernatantul limpede se colorimetrează la colorimetrul Dubosque, servindu-ne ca martor de soluţia de sulfat de cobalt.

Rezultatul se calculează după formula :

$$\frac{\text{Înălţimea standardului}}{\text{Înălţimea serului}} \times 4{,}25 = \text{unităţi van den Bergh.}$$

Convertită în miligrame, unitatea van den Bergh corespunde la 0,5 mg bilirubină %.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	242 +)	*Acidum amino benzolsulfonicum para* pt. a.	0,3 g
Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	1 ml
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	400 ml
Cod	3 103 +)	*Ammonium sulfuricum* pt. a.	20 g
Cod	5 801 +)	*Cobaltum sulfuricum oxydulatum* pt. a.	10 g
Cod	12 124	*Natrium nitrosum in baccilis* p. a. . .	0,025 g

8. DOZAREA CLORULUI PLASMATIC

a) *Metoda Volhard-Laudat*

Reactivi necesari şi tehnică identice cu cele descrise la examenul lichidului cefalorahidian, cu deosebirea că, pentru mineralizare, în loc de cîteva picături de soluţie saturată de permanganat de potasiu, se întrebuinţează 3 ml din această soluţie. Sîngele se recoltează pe anticoagulant nesalin (heparină, licoid).

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 189	*Acidum nitricum* (—Cl, Pb) D=1,42 p. a.	175 ml
Cod 1 512 +)	*Acidum sulfuricum* D=1,83	500 g
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	10 g
	sau	
Cod 18 170	*Argentum nitricum* N/10	600 ml
Cod 18 174	*Argentum nitricum* N/50	2 500 ml
Cod 7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.	300 g
Cod 9 614	*Kalium chromicum* p. a.	0,50 g
Cod 9 769 +)	*Kalium permanganicum* pt. a.	80 g
Cod 9 823	*Kalium rhodanatum* p. a.	3 g
	sau	
Cod 18 416	*Kalium thyocyanatum* N/10	300 ml
Cod 11 864 A	*Natrium chloratum Sörensen* p. a. . .	7 g
	sau	
Cod 18 486	*Natrium chloratum* N/10	150 ml

b) *Metoda Mohr*

Reactivi : soluţie de nitrat de argint N/50 ; alcool ; soluţie de cromat de potasiu 7%.

Prepararea soluţiilor

Soluţia de nitrat de argint N/50 se prepară din :

soluţie nitrat de argint N/10 . . .	20 ml
apă distilată	100 ml

1 ml corespunde la 0,709 mg clor sau 1,17 mg cloruri.

Soluţia nitrat de argint N/10 se prepară astfel :

nitrat de argint	16,988 g
apă distilată	1 000 ml

În loc de soluţia N/50 se poate utiliza o soluţie de nitrat de argint de 2,906 g la litru (2) ; 1 ml din această soluţie corespunde la 0,607 mg clor sau la 1 mg cloruri.

Soluţia se mai poate prepara din 171 ml de soluţie de nitrat de argint N/10 dusă la balon cotat cu apă bidistilată, la 1 000 ml.

Tehnică. Peste 1 ml de ser sau de plasmă se adaugă 19 ml de alcool. Se agită şi se filtrează. Din filtrul limpede se iau 10 ml, se adaugă 1—2 picături din soluţia de cromat de potasiu şi se titrează cu soluţia de nitrat de argint pînă la apariţia unei culori roşii persistente.

Rezultatul se poate exprima fie în cloruri, fie în clor. În caz cînd s-a întrebuinţat soluţia de nitrat de argint N/50, numărul de mililitri întrebuinţaţi la titrare se înmulţeşte cu 1,17 pentru cloruri, cu 0,709 pentru clor, iar produsul se înmulţeşte cu 200. Avem cantitatea în miligrame la 100 ml sînge sau plasmă.

În caz cînd s-a întrebuinţat la titrare soluţia 1, numărul de mililitri întrebuinţaţi la titrare se înmulţeşte cu 1 pentru cloruri şi cu 0,607 pentru clor, iar produsul cu 200. Avem astfel cantitatea în miligrame la 100 ml sînge sau plasmă.

Pentru exprimarea în miliechivalenţi, aplicăm formula :

$$\text{mEq litru} = \frac{\text{mg‰} \times \text{valenţa}}{\text{Greutatea atomică}}, \text{ adică } \frac{\text{mg‰ clor} \times 1}{35{,}5}$$

Rezultate. Sîngele normal conţine în ser sau plasmă între 577 şi 627 mg % cloruri, corespunzînd la 350—380 mg clor % sau 100—108 mEq. Pentru dozarea clorului în plasmă sîngele se recoltează pe heparină.

Prepararea eprubetelor. Soluţia de heparină din fiole se îndoieşte cu apă bidistilată. Se repartizează în eprubete curate, cîte 5—6 picături din acest amestec. Eprubetele se usucă apoi la etuvă la 105°C. Apoi se evaporă, iar heparina rămasă pe fundul eprubetei este suficientă pentru a face să nu coaguleze 10—15 ml de sînge, cu condiţia ca după prelevare şi după ce a fost pus în eprubeta heparinată, sîngele să fie îndeajuns agitat ca heparina să se repartizeze în întreaga lui masă. Pentru prepararea a 100 de eprubete sînt necesare 12—13 fiole heparină a 5 000 u.i. pe mililitru.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	2 500 ml
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	2 g
	sau	
Cod 18 170	*Argentum* N/10	100 ml
	sau	
Cod 18 174	*Argentum* N/50	500 ml
Cod 9 614	*Kalium chromicum* p. a.	1 g

9. DOZAREA CLORULUI GLOBULAR

Reactivi : ca la metoda Volhard—Laudat sau Mohr.

Tehnică. Din sedimentul de globule roşii al sîngelui recoltat pe heparină sau licoid şi centrifugat 30 de minute la 6 000 de ture se ia, după îndepărtarea plasmei, 1 ml şi se dozează clorul, fie după metoda Volhard—Laudat, întrebuinţînd pentru mineralizare 6 ml de soluţie saturată de permanganat, fie după metoda Mohr, la fel ca la dozarea în ser sau în plasmă.

Calculul se face la fel ca la dozarea în plasmă.

Rezultate. Globulele roşii conţin o cantitate de cloruri (sau clor) aproximativ de 2 ori mai mică decît serul sau plasma.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 189	*Acidum nitricum (—Cl,Pb)* D = 1,42 p. a.	175 ml
Cod 1 512 +)	*Acidum sulfuricum* D=1,83	500 g
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	10 g
	sau	
Cod 18 170	*Argentum nitricum* N/10	600 ml
	sau	
Cod 18 174	*Argentum nitricum* N/50	2 500 ml
Cod 7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a	300 g

Scanned with OKEN Scanner

Cod	9 614	*Kalium chromicum* p. a.	0,50 g
Cod	9 769 +)	*Kalium permanganicum* pt. a.. . . .	150 g
Cod	9 823	*Kalium rhodanatum* p. a.	3 g
		sau	
Cod	18 416	*Kalium thyocyanatum* N/10	300 ml
Cod	11 864 A	*Natrium chloratum Sörensen* p. a. . .	7 g
		sau	
Cod	18 486	*Natrium chloratum* N/10	150 ml
		Heparină 5 000 u.i.	15 fiole

10. DOZAREA FOSFORULUI MINERAL

Metoda Bell—Doisy—Briggs

Reactivi : soluţie de acid tricloracetic 20% ; soluţie de molibdat de amoniu în acid sulfuric ; hidrochinonă 2 g % ; soluţie sulfit de sodiu ; soluţie standard de fosfor.

Prepararea soluţiilor

Soluţie molibdat de amoniu în acid sulfuric :

molibdat de amoniu	2,5 g
soluţie de acid sulfuric 10 N . .	100 ml

(acidul sulfuric 10 N se prepară din 45 ml acid sulfuric concentrat, care se pun în 130 ml apă distilată).

Soluţia hidrochinonă 2%. Se adaugă 0,1 acid sulfuric concentrat. Se păstrează în sticlă brună, bine închisă şi la întuneric. Reactivul trebuie să nu se coloreze în galben. În locul hidrochinonei se pot întrebuinţa şi alţi agenţi reductori, ca amidolul (clorhidrat de 2,4-diaminofenol), econogenul (acid 1,2,4-aminonaftosulfonic), metolul (metilparaaminofenol), vitamina C etc.

Soluţia sulfit de sodiu

Sulfit de sodiu cristalizat 7,5 g se dizolvă în 50 ml apă ; se amestecă cu 200 ml dintr-o soluţie de carbonat de sodiu cristalizat 20%. Soluţia se păstrează doar 2—3 săptămîni.

Soluţie standard de fosfor

Se prepară din 4,386 6 g fosfat monobazic de potasiu, uscat cîteva zile la exsicator pe acid sulfuric concentrat, dizolvat în 200—300 ml apă. Se adaugă cîteva picături de cloroform şi apoi se duce la balon cotat de 1 000 ml, la semn, cu apă bidistilată. Pentru soluţia etalon de lucru, soluţia standard se diluează de 200 de ori, adică se ia 1 ml din soluţia standard şi se duce la balon cotat la 200 ml (sau 5 ml la 1 000 ml). 10 ml din această soluţie conţin 0,05 mg fosfor. Soluţiile etalon tulburi nu se vor mai întrebuinţa.

Tehnică. Peste 2 ml ser se adaugă 4 ml apă distilată şi 4 ml soluţie de acid tricloracetic 20% ; se amestecă şi apoi se mai adaugă încă 10 ml apă. Se lasă la răcitor 15—20 de minute şi se filtrează.

Din filtratul limpede se iau 10 ml (deci se lucrează pe 1 ml de ser) şi se pun într-un balon cotat de 25 ml. În alt balon cotat se pun 10 ml din soluţia etalon (conţinînd 0,05 mg fosfor) şi se adaugă 2 ml acid tricloracetic 20%. În ambele baloane se adaugă cîte 2 ml din soluţia de molibdat de amoniu şi cîte 2 ml din soluţia de hidrochinonă. Se lasă 5 minute şi se adaugă cîte 5 ml din soluţia de carbonat-sulfit. Se umple pînă la semn cu apă bidistilată, se agită şi se colorimetrează la colorimetru Dubosque după 5 minute.

Scanned with OKEN Scanner

Colorimetrarea se poate face și la fotometrul Pulfrich sau la un fotocolorimetru cu celulă fotoelectrică, după stabilirea în prealabil a curbelor etalon. Se recomandă filtrul S_{61}.

În acest caz, substanțele necesare se reduc la jumătate ; după fixarea curbei de referință, soluția standard nu mai este necesară.

Rezultatul se dă după formula :

$$\frac{\text{Etalon} \times 0{,}05}{\text{Ser}} \times 100 = \text{mg \% fosfor mineral la 100 ml ser}$$

Serul sanguin normal conține între 2 și 5 mg fosfor mineral la 100 ml ; la copil valoarea este ceva mai mare, între 4 și 5,5 mg.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	300 ml
Cod 1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a. . . .	150 g
Cod 3 007	*Ammonium molibdaenicum cryst.* pt. a.	13 g
Cod 5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	1 ml
Cod 8 853	*Hydrochinonum* p. a.	5 g
Cod 9 787 A	*Kalium phosphoricum monobasicum Sörensen* p. a.	1 g
Cod 11 840 +)	*Natrium carbonicum cryst.* pt. a. . .	150 g
Cod 12 367	*Natrium sulfurosum cryst.* p. a. . . .	40 g

11. DOZAREA CALCIULUI

a) *Metoda titrimetrică Kramer și Tisdall*

Reactivi : soluție de acid tricloracetic 20% ; soluție de oxalat de amoniu 4% ; soluție saturată de acetat de sodiu 50% ; soluție diluată de amoniac : 5 ml amoniac 10% diluat cu 95 ml apă distilată ; acid sulfuric 4,5% ; soluție de permanganat de potasiu N/100 ; soluție de acid oxalic N/100.

Prepararea soluțiilor

Soluție permanganat de potasiu N/100
Permanganat de potasiu soluție N/10 (3,160 5 g‰) 10 ml
Apă distilată 90 ml, la balon cotat.
Soluție diluată de amoniac
Amoniac 10% 5 ml
Apă distilată 95 ml
Soluție acid oxalic N/100
Acid oxalic soluție N/10 (6,299 g la 2 ml apă) 10 ml
Apă distilată 90 ml, la balon cotat.
Soluția acid oxalic N/10 este stabilă și poate fi utilizată ca soluție de referință pentru titrare.

Tehnică. Într-o eprubetă de centrifugă, la 2 ml de ser sanguin (sau sînge total) se adaugă, agitînd, 6 ml apă bidistilată și 2 ml de acid tricloracetic 20%. Se lasă în repaus 30 de minute, apoi se filtrează.

Scanned with OKEN Scanner

La 5 ml de filtrat se adaugă, agitind cu o baghetă fină de sticlă 1 ml de soluţie de oxalat de amoniu şi 2 ml din soluţia de acetat de sodiu ; după agitare energică cu bagheta, aceasta este scoasă, după clătire cu apă, din soluţie, care este lăsată în repaus 24 de ore. Apoi se centrifughează 30 de minute la 6 000 de ture. Supernatantul se scurge în totalitate ; precipitatul se desprinde cu o baghetă fină de sticlă şi se spală cu 3—4 ml din soluţia de amoniac diluată. Se centrifughează din nou, se spală, iar cu soluţie amoniacală se centrifughează, operaţia repetîndu-se de 4 ori. După ultima centrifugare se controlează dacă în apa de spălare mai persistă urme de oxalat de amoniu, prin tratarea ei la cald, după adaos de acid sulfuric diluat, cu soluţie N/100 de permanganat, care nu trebuie să se decoloreze.

Precipitatul astfel spălat se dizolvă în 2 ml acid sulfuric 4,5%, agitînd cu bagheta ; oxalatul de calciu se desface în acid oxalic şi sulfat de calciu ; eprubeta se pune într-o baie încălzită la 80—90%, unde se ţine 1—2 minute şi se titrează la cald cu soluţie de permanganat de sodiu N/100. Normalitatea acestei soluţii a fost verificată înainte cu soluţie de acid oxalic N/100, stabilindu-i-se factorul.

Numărul de mililitri din soluţia de permanganat întrebuinţaţi, corectat cu factorul stabilit al soluţiei, înmulţit cu 0,2 ne dă conţinutul în calciu, în miligrame la 1 ml ser (sau sînge), întrucît 1 ml de soluţie de permanganat de potasiu N/100 este echivalent cu 0,2 mg calciu. Înmulţind cu 100, avem conţinutul în mg la 100 ml ser.

Rezultate. Normal, sîngele conţine 0,090—0,110 g calciu la litru.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 249	*Acidum oxalicum* p. a.	0,4 g
	sau	
Cod 18 068	*Acidum oxalicum* N/10	50 ml
Cod 1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	12 g
Cod 1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a. . . .	60 g
Cod 2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	10 ml
Cod 3 024 +)	*Ammonium oxalicum* pt. a.	6 g
Cod 9 767	*Kalium permanganicum* p. a.	0,3 g
	sau	
Cod 18 406	*Kalium permanganicum* N/10	80 ml
Cod 11 638 +)	*Natrium aceticum cryst.* pt. a. . . .	75 g

b) *Dozarea la fotometrul cu flacără*

Reactivi : soluţie standard I ; soluţie standard II ; soluţie standard III.

Pentru lucru se prepară din aceste soluţii standard soluţiile etalon 1, 2 şi 3, diluîndu-le cu apă bidistilată, la balon cotat, în proporţie de 1 ml soluţie standard la 20 ml.

Prepararea soluţiilor

— Soluţie standard I :

Carbonat de calciu anhidru . . .	0,125 g
Acid clorhidric concentrat . . .	50 ml
Clorură de sodiu	7,880 g
Clorură de potasiu	0,360 g

Scanned with OKEN Scanner

Apă bidistilată pînă la 1 000 ml la balon cotat.
Soluția conține 5 mg calciu%.
Soluție standard II :
carbonat de calciu anhidru 0,250 g
apoi acid clorhidric, clorură de sodiu, clorură de potasiu și apă bidistilată, ca la soluția standard I.
Soluția conține 10 mg calciu %.
Soluție standard III :
carbonat de calciu anhidru 0,375 g
celelalte substanțe ca mai sus.
Soluția conține 15 mg calciu la 100 ml.

Tehnică. Serul de cercetat se diluează cu apă bidistilată în proporție de 1/20.

Se procedează ca la dozarea fotometrică cu flacără a sodiului, întrebuințînd, bineînțeles, filtrul pentru calciu și soluțiile etalon respective.

Soluțiile standard I, II și III conservîndu-se timp îndelungat, este recomandabil ca ele să fie făcute după formula indicată, în cantități mai mari. Ele pot asigura necesitățile pe foarte mult timp, bineînțeles dacă nu sînt poluate.

Rezultatul se obține raportînd cifra obținută la galvanometru, după arderea diluției de ser, la curba construită pe hîrtie milimetrică cu ajutorul cifrelor obținute cu cele 3 soluții etalon. Curba etalon se reface zilnic.

Reactivi necesari (lunar pentru dozări zilnice)

Cod 931 *Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a. 6 ml
Cod 5 027 A *Calcium carbonicum siccum* p. a. . . . 0,03 g
Cod 9 600 +) *Kalium chloratum cryst.* pt. a. . . . 0,05 g
Cod 11 862 *Natrium chloratum* pt. a. . . . . 1 g
În plus, aer comprimat și acetilenă.
De asemenea, pentru uscarea acetilenei și purificarea ei
Cod 1 521 *Acidum sulfuricum anhydricum purum* 200 g

12. DOZAREA SODIULUI

Metoda la fotometrul cu flacără

Reactivi : soluție standard ; soluție etalon 1 ; soluție etalon 2 ; soluție etalon 3.

Prepararea soluțiilor

Soluția standard :
— clorură de sodiu 2,541 81 g
— apă bidistilată pînă la 1 000 ml la balon cotat.
Soluția conține 1 mg sodiu pe mililitru.

Din această soluție se prepară 3 soluții etalon, de concentrații diferite, pentru trasarea curbei de referință.

Soluția etalon 1 :
2,5 ml din soluția standard, la balon cotat de 100 ml, cu apă bidistilată.
Soluția etalon 2 :
3 ml din soluția standard la balon cotat de 100 ml, cu apă bidistilată.
Soluția etalon 3 :
3,5 ml din soluția standard la balon cotat de 100 ml, cu apă bidistilată.

Soluțiile etalon 1, 2 și 3 corespund, avînd în vedere că se va lucra cu o diluție de 1% ser, la concentrația de respectiv 250, 300 și 350 mg sodiu la 100 ml.

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică. Serul de cercetat se diluează în balon cotat de 100 ml punînd 1 ml şi ducînd la 100 cu apă bidistilată.

Se pun întîi, pe rînd, soluţiile etalon în cutii Petri, se pulverizează şi se ard, iar din cifrele citite la galvanometru se construieşte curba etalon, pe hîrtie milimetrică.

Serul diluat de cercetat se pune într-o cutie Petri, se pulverizează şi se arde. Valoarea obţinută la galvanometru se raportează la curba etalon, care se reface zilnic.

Rezultate. Serul normal conţine între 310 şi 350 mg sodiu la 100 ml. Rezultatul se poate da şi în miliechivalenţi, după formula :

$$\text{mEq } ‰ = \frac{\text{mg } ‰ \times \text{valenţe}}{\text{Greutate atomică}}, \text{ adică } \frac{\text{mg } ‰ \times 1}{23}$$

Serul normal conţine între 134 şi 152 mEq sodiu.

Reactivi necesari (pentru o lună de lucru)

Cod 11 862 *Natrium chloratum* pt. a. . . . . 1 g
Aer comprimat, acetilenă, acid sulfuric.

13. DOZAREA POTASIULUI

Metoda la fotometrul cu flacără

Reactivi : soluţia standard ; soluţia solvent.

Prepararea soluţiilor

Soluţia standard :
clorură de potasiu 0,955 0 g la balon cotat de 1 000 ml, cu apă bidistilată.
Conţine 0,5 mg potasiu la 1 ml.
Soluţia solvent :
clorură de calciu anhidră 1,387 5 g
clorură de sodiu . . . 41,96 g
apă bidistilată 1 000 ml (la balon cotat).

Această soluţie serveşte la prepararea soluţiilor etalon şi are ca scop să corijeze interferenţa cu ceilalţi cationi — calciu şi sodiu — prezenţi în ser.

Din soluţia standard se prepară 3 soluţii etalon, punînd 1, 2 şi 3 ml din această soluţie la balon cotat de 100 ml şi adăugînd la semn cu soluţia de solvent. Avînd în vedere că serul pentru dozat va fi diluat 1/20, soluţiile etalon de potasiu vor corespunde respectiv la concentraţiile de 10—20 şi 30 mg% potasiu.

Tehnică. Serul sanguin se diluează la balon cotat de 20, luînd 1 ml şi ducîndu-l la semn cu apă bidistilată.

Se construieşte curba cu soluţiile etalon şi apoi se pulverizează şi se arde diluţia de ser. Se citeşte pe curba etalon, care se construieşte zilnic, valoarea corespunzătoare cifrei citite la galvanometru.

Rezultate. Conţinutul normal în potasiu al serului sanguin variază între 16 şi 22 mg la 100 ml ser.

Pentru exprimarea în miliechivalenţi se aplică formula :

$$\frac{\text{Potasiu mg } ‰ \times 1}{39{,}1}$$

Conţinutul potasiului în mEq variază între 4 şi 5,6.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (lunar pentru dozări zilnice)

Cod	5 041 +)	*Calcium chloratum anhydricum* pt. a.	5 g
Cod	9 600 +)	*Kalium chloratum cryst.* pt. a.	0,03 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	150 g
		Aer comprimat, acetilenă, acid sulfuric.	

14. DETERMINAREA REZERVEI ALCALINE

Reactivi : soluţie de acid sulfuric 10% ; soluţie de amoniac 1% ; alcool octilic.

Tehnică. 7—8 ml de sînge se recoltează într-o eprubetă heparinată şi sub un strat de parafină. Se centrifughează tot sub parafină pentru a obţine plasma. 3—4 ml din plasmă se pun într-un aparat special (tonometru) sau improvizat (o pîlnie de separare) şi se echilibrează fie cu un amestec de aer şi bioxid de carbon în proporţia aerului alveolar, fie suflînd aerul din plămîni, spre sfîrşitul unei expiraţii normale.

Dozarea propriu-zisă se efectuează la aparatul van Slyke. Se pune în cupa aparatului aproximativ 0,5 ml soluţie de amoniac sub care se pune 1 ml de plasmă echilibrată cu aer alveolar. Se introduce în aparat ; se mai pune în cupă 0,5 ml apă distilată fiartă şi 2 picături alcool octilic, care se introduc şi ele în aparat. În urmă se introduce în aparat 0,5 ml din soluţia de acid sulfuric. Se coboară mercurul din aparat pînă la marca 50 şi prin manevrarea robinetului inferior se lasă în aparat numai amestecul plasmă-reactivi. Se agită de cîteva ori şi apoi, din robinetul de la partea inferioară se dă drumul mercurului în aparat şi se citeşte volumul de bioxid de carbon degajat avînd grijă ca mercurul din aparat să fie la acelaşi nivel cu acela din para de sticlă de manevră. Volumul citit se corectează după tabele speciale de corectură, pentru temperatură şi presiune barometrică.

Rezultate. Valorile normale variază între 50 şi 70 ml CO_2 la 100 ml plasmă.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	10 ml
Cod	2 432	*Alcohol octylicus normale primar* p. a.	10 g
Cod	2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	100 ml

Soluţia de amoniac serveşte şi la spălarea aparatului după fiecare examen.

În plus mai este necesar.

Hydrargyrum metallicum p. a.	5 000 g

15. DETERMINĂRI DE ACTIVITĂŢI ENZIMATICE ÎN SER

a) *Determinarea activităţii amilazice. Metoda Wohlgemuth*

Reactivi : soluţie clorurosodică izotonă 9 g‰ ; soluţie de amidon 1 g ‰ ; soluţie Lugol.

Prepararea soluțiilor

Soluție amidon 1 g‰ :
1 g de amidon solubil se suspendă în 4—5 ml soluție clorurosodică izotonă. Suspensia se toarnă încetul cu încetul în 70—80 ml soluție clorurosodică izotonă clocotindă, se clătește paharul, se fierbe o dată-de două ori, se răcește, se completează apoi cu apă distilată pînă la 1 000 ml.

Soluție Lugol :
Iod metaloid 1 g.
Iodură de potasiu 2 g.
Apă distilată 300 ml ; se dizolvă iodura în 100 ml de apă, se dizolvă apoi iodul și se duce totul la 300 ml.

Tehnică. Reacția se face în 10 eprubete ; în prima și a doua eprubetă se pun cîte 1 ml de ser sanguin ; într-a doua eprubetă și în toate celelalte se adaugă cîte 1 ml soluție clorurosodică izotonă ; amestecul se face suflînd cu o pipetă conținutul eprubetei 2, apoi se ia de aici 1 ml și se trece în eprubeta 3 ; se amestecă și aci iar apoi se trece 1 ml din amestec în eprubeta 4 și așa mai departe. Se obțin diluții în cele 10 tuburi de ser : 1/1 — 1/2 — 1/4 — 1/8 — 1/16 — 1/32 — 1/64 — 1/128 — 1/256 și 1/512.

Se adaugă în toate eprubetele 2 ml din soluția de amidon. Se pune la termostat la 37° timp de 30 de minute (sau la 45 de ore, 15 minute). După acest interval de timp eprubetele se scot de la termostat, se răcesc la robinet și se adaugă, începînd cu ultima, cîteva picături din soluția Lugol, pînă la persistența culorii albastre. Eprubeta în care se mai obține această culoare arată limita diluției pînă la care serul a mai exercitat o activitate diastazică amilolitică. Colorația violetă este dată de prezența dextrinelor, iar colorația galbenă de corpi mai simpli ca acrodextrină, dextroze, maltoză.

Rezultatul se dă în unități Wohlgemuth care corespund diluției de ser din eprubeta care precede pe aceea cu colorația albastră.

$$\text{Normal d } \frac{37^\circ}{30'} = 32 \text{ u.W.}$$

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 3 210	*Amylum solubile* pt. a.	2,5 g
Cod 9 374	*Jodum metallicum resublimatum* pss. .	1 g
Cod 9 695 b	*Kalium jodatum* p. a.	2 g
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	15 g

b) *Fosfataza alcalină*

Reactivi : substrat ; soluție de acid tricloracetic 10 % ; reactivii necesari pentru dozarea fosforului mineral din sînge.

Prepararea soluțiilor

Substrat
glicerofosfat de sodiu . . . . 0,5 g
veronal sodic . . . . 0,424 g
apă distilată pînă la . . . . 100 ml
Soluția trebuie să aibă un pH=8,6
Soluția se păstrează la frigider sub un strat de toluol.

Tehnică. Se pun într-o eprubetă 10 ml din substrat şi se ţine la termostat la 37° timp de 5—10 minute ; se adaugă 1 ml ser proaspăt nehemolizat, se amestecă uşor şi se lasă o oră la 37°. Apoi se răceşte la robinet şi se adaugă 9 ml acid tricloracetic.

Se procedează la fel şi cu proba martor : 10 ml substrat, 1 ml ser peste care se adaugă imediat 9 ml din soluţia de acid tricloracetic.

Se filtrează ambele soluţii, din care se iau cîte 10 ml în care se dozează fosforul mineral, după metoda descrisă la dozarea fosforului, continuînd de la filtratul defecat.

La calcularea rezultatului se va avea în vedere că lucrăm pe 0,25 ml ser.

Rezultate. Rezultatul se dă scăzînd din rezultatul probei exprimate în miligrame fosfor la sută, cifra obţinută la dozarea martorului, care corespunde cu cantitatea de fosfor conţinută în ser.

Diferenţa corespunde la numărul de miligrame de fosfor eliberat de fosfataza alcalină din 100 ml ser timp de o oră la 37°. Corespunde unităţilor calitative Bodansky.

Valorile normale la adult, între 2 şi 4 u. B. la 100 ml ser.

Valorile normale la copil, între 5 şi 15 u.B. la 100 ml ser.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	600 ml
Cod	1 609	*Acidum tricloraceticum* p. a.	220 g
Cod	3 007	*Ammonium molibdaenicum cryst.* p. a.	26 g
Cod	5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	2 ml
Cod	8 853	*Hydrochinonum* p. a.	10 g
Cod	9 787 a	*Kalium phosporicum monobasicum Sörensen* p. a.	2 g
Cod	11 840 +)	*Natrium carbonicum cryst.* pt. a. . .	300 g
Cod	11 978	*Natrium glicerophosphoricum beta* p. a.	1,25 g
Cod	11 920	*5-5 Natrium diaethylbarbituricum* p. a.	1 g
Cod	12 367	*Natrium sulfurosum cryst.* p. a. . . .	80 g
Cod	16 138	*Toluolum* p. a.	50 ml

c) *Fosfataza acidă*

Reactivi : substrat pH 4,5 (acidifiat cu cîteva picături de acid acetic concentrat) ; acid tricloracetic 10%.

Tehnică. Se procedează în acelaşi fel ca la determinarea activităţii fosfatazei alcaline. Calculul se face în acelaşi fel.

Rezultate. Valorile normale variază între 0,05 şi 0,1 u.B. la 100 ml ser.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	10 ml
Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	600 ml
Cod	1 609	*Acidum tricloraceticum* p. a.	220 g
Cod	3 007	*Ammonium molibdaenicum cryst.* p. a.	26 g

Scanned with OKEN Scanner

Cod	5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	2 ml
Cod	8 853	*Hydrochinonum* p. a.	10 g
Cod	9 787 a	*Kalium phosporicum monobasicum Sörensen* p. a.	2 g
Cod	11 840 +)	*Natrium carbonicum cryst.* pt. a. . .	300 g
Cod	11 978	*Natrium glicerophosphoricum beta* p. a.	1,25 g
Cod	11 920	5-5 *Natrium diaethylbarbituricum* p. a.	1 g
Cod	12 367	*Natrium sulfurosum cryst.* p. a. . . .	80 g
Cod	16 138	*Toluolum* p. a.	50 ml

d) *Transaminazele serice*

Determinarea activităţii transaminazei oxalacetice G.O.T.

Metoda Cabaud şi Wroblenski

Reactivi necesari: substrat; acid tricloracetic 100%; soluţie de citrat de anilină; soluţie de 2—4 dinitrofenil hidrazină; toluol; potasă alcoolică.

Prepararea soluţiilor

Substrat:

Se dizolvă, într-un balon cotat de 50 ml, 1,33 g de acid d.l. aspartic şi 1 g de fosfat monopotasic în 40 ml apă bidistilată, încălzită la 80°. Se adaugă picătură cu picătură dintr-o soluţie de hidroxid de sodiu N/10 pînă la pH 7. Se răceşte şi se adaugă 0,015 g de acid α-cetoglutaric. Se ajustează din nou pH cu soluţia N/10 de hidroxid la pH 7,4. Se aduce totul la 50 ml.

Soluţie citrat de anilină:

Se prepară din soluţie de acid citric 10 g la 10 ml apă bidistilată şi anilină distilată, în părţi egale. Soluţia nu se păstrează decît 3—4 zile. Dacă depune cristale, nu se va mai întrebuinţa dacă aceste cristale nu se dizolvă după agitare. Amestecul se păstrează la frigider, flaconul fiind învelit în hîrtie neagră.

Soluţie de 2—4 dinitrofenil hidrazină:

2—4 dinitrofenil hidrazină . .	0,020 g	
Acid clorhidric N/1	100 ml	

Potasă alcoolică:

Hidroxid de potasiu	1,25 g	
Apă bidistilată	0,83 ml	
Alcool 96° pînă la	50 ml	(balon cotat).

Tehnică. Într-o eprubetă de centrifugă se pun 0,5 ml apă bidistilată şi 0,5 ml substrat. Se pune într-o baie la 37° (căldură umedă) pînă ia temperatura. Se adaugă 0,5 ml de ser şi se ţine din nou la 37° timp de 10 minute. Se răceşte la robinet şi apoi se adaugă o picătură de soluţie de acid tricloracetic şi 1 ml din soluţia de citrat de anilină.

Se lasă în repaus 45 de minute. Apoi se adaugă 0,5 ml din soluţia de dinitrofenil hidrazină. După 4—5 minute se adaugă 2 ml de toluol, se agită prin răsturnare şi apoi se centrifughează 5 minute la 5 000 de ture. Din supernatant se ia 1 ml peste care se adaugă 3 ml din potasa alcoolică. Se dezvoltă culoarea roşie-brună, caracteristică acidului piruvic.

Se citeşte la fotometrul Pulfrich cu filtrul S_{53}, în cuva de 1 cm, avînd ca martor apa distilată. Valorile de extincţie înmulţite cu 200 ne dau unităţile G.O.T./ml ser.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultate. Valorile normale variază între 20 și 40 de unități.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	361	*Acidum aminosuccinicum* D. L. p. a.	1,5 g
Cod	595	*Acidum α-cetoglutaricum* p. a.	0,030 g
Cod	691	*Acidum citricum cryst.* p. a.	100 g
Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	5 g
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	400 ml
Cod	3 277	*Anilinum* p. a.	100 g
Cod	6 863	2-4 *Dinitro phenyl hydrasinum* p. a.	0,015 g
Cod	9 672	*Kalium hydricum in rotulis* p. a.	10 g
Cod	9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	1,5 g
Cod	16 138	*Toluolum* p. a.	500 ml
Cod	18 028	*Acidum hydrochloricum* N/1	75 ml
Cod	18 504	*Natrium hydricum* N/10	5 ml

Determinarea activității transaminazei piruvice G.P.T.

Reactivi : substrat ; reactivii necesari la determinarea activității transaminazei oxalacetică.

Prepararea soluțiilor

Substrat. Se prepară ca și substratul transaminazei oxalacetice, numai că în loc de acid d. l. aspartic se utilizează 0,9 g de d. l. alanină. Soluția se prepară la rece ; pH-ul se ajustează în același fel.

Tehnica este aceeași, ca și colorimetrarea și exprimarea rezultatelor.

Rezultate. Valorile normale variază între 16 și 32 unități G.P.T./ml ser.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	595	*Acidum α-cetoglutaricum* p. a.	0,030 g
Cod	691	*Acidum citricum cryst.* p. a.	100 g
Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	5 g
Cod	2 303	*Alanin* D. L. p. a.	1,1 g
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	400 ml
Cod	3 277	*Anilinum* p. a.	100 g
Cod	6 863	2-3 *Dinitro phenyl hydrasinum* p. a.	0,015 g
Cod	9 672	*Kalium hydricum in rotulis* p. a.	10 g
Cod	9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	1,5 g
Cod	16 138	*Toluolum* p. a.	500 ml
Cod	18 028	*Acidum hydrochloricum* N/1	75 ml
Cod	18 504	*Natrium hydricum* N/10	5 ml

e) *Aldolaza serică*

Metoda Tovarniţki-Volniskaia

Reactivi : substrat ; hidroxid de sodiu soluție N/1 ; soluție de bicarbonat de sodiu 1,5% ; soluție de sulfat de hidrazină ; soluție de albastru

Scanned with OKEN Scanner

de bromtimol ; soluţie de acid monoiodacetic ; soluţie de acid tricloracetic 10% ; soluţie de hidroxid de sodiu 3% ; soluţie de 2—4 dinitrofenilhidrazină.

Prepararea soluţiilor

Substrat :

Soluţia sării de sodiu a 1—6 difosfatului de fructoză se prepară din sarea de bariu a fructozodifosfatului astfel : Într-o eprubetă de centrifugă se pun 0,2 g din această sare şi se adaugă spre a dizolva 8 ml soluţie normală de acid clorhidric. După 10 minute se adaugă 1 ml de soluţie de sulfat de sodiu 14% pentru a precipita bariul. După 10 minute se centrifughează. Supernatantul nu mai trebuie să dea precipitat cu soluţia de sulfat de sodiu. Se decantează într-un balon de 25 ml, se alcalinizează cu soluţie normală de hidrat de sodiu la un pH 7,4. Se completează după răcire cu apă bidistilată la 25 ml, se filtrează în sticlă brună, se adaugă spre conservare cîteva picături de cloroform.

Soluţia sulfat de hidrazină

Se prepară, dizolvînd la balon cotat de 100 ml, 7,28 g substanţă în aproximativ 50 ml apă, ajustînd apoi pH-ul la 7,4 cu soluţie de hidrat de sodiu normală şi completînd apoi pînă la 100 ml.

Soluţie de albastru de bromtimol

Se prepară din 0,01 g din indicator dizolvat la balon cotat de 25 ml în 3,2 ml soluţie 0,2% de hidroxid de sodiu, dusă apoi la semn cu apă. Soluţia va servi ca indicator pentru alcalinizarea soluţiilor precedente. Ea virează la pH 7,6 în albastru.

Soluţie de acid monoiodacetic se prepară la balon de 100 ml, dizolvînd 0,040 g acid în 50 ml apă, ajustînd pH-ul cu soluţie normală de hidroxid de sodiu la 7,4 şi completînd pînă la 100 ml.

Soluţie de 2—4 dinitrofenilhidrazină. Se prepară dizolvînd 0,1 g substanţă în 100 ml soluţie de acid clorhidric 2 N.

Tehnică. Se pun într-o eprubetă în ordinea următoare : 0,5 ml ser fără hemoliză, 0,5 ml din soluţia de bicarbonat, 0,12 ml din soluţia de sulfat de hidrazină, 0,12 ml din soluţia de acid monoiodacetic, 0,12 ml apă distilată şi 0,12 ml din substrat. Se agită şi se lasă la termostat la 37° o oră, într-un vas cu apă sau la ultratermostat.

După acest timp se precipită proteinele prin adaosul de 1,5 ml de soluţie de acid tricloracetic. Se agită, apoi se filtrează sau se centrifughează.

Se ia 0,5 ml din lichidul limpede, se adaugă 0,5 ml din soluţia de hidroxid de sodiu, se agită şi se lasă la temperatura camerei 10 minute. Se adaugă 0,5 ml din soluţia de dinitrofenilhidrazină şi se pune din nou la 37°, timp de 10 minute. Se adaugă apoi încă 3,5 ml din soluţia de hidroxid de sodiu. Se lasă în repaus 3 minute, apoi se colorimetrează la fotometrul Pulfrich, cu cuva de 0,5 cm, filtrul S_{52}, avînd ca martor apa. Colorimetrarea trebuie făcută în interval de 15 minute.

În acelaşi timp se prepară şi o probă martor în care se vor folosi toţi reactivii în cantitatea şi în ordinea indicată, în afara soluţiei substrat, care se va adăuga după incubarea de o oră la 37°, înainte de precipitarea proteinelor.

Rezultatele se calculează scăzînd, din cifra extincţiei probei de reacţie, cifra extincţiei probei martor şi înmulţind cu 100, ceea ce corespunde unităţilor convenţionale de extincţie.

Valorile normale variază la bărbat între 5 şi 10 unităţi, la femeie între 3 şi 9 unităţi.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	1 005	*Acidum iodaceticum mono* p. a. . . .	0,015 g
Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a. . . .	40 g
Cod	5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	10 ml
Cod	6 863	2-4 *Dinitro phenyl hydrasinum* p. a. .	0,15 g
Cod	7 839	*Fructose 1-6 diphosphoricum dibarium purum*	0,25 g
Cod	8 840 +)	*Hydrasinum sulfuricum* p. a.	2,5 g
Cod	11 741	*Natrium bicarbonicum* p. a.	2 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	30 g
Cod	12 360 +)	*Natrium sulfuricum siccum* pt. a. . .	0,2 g
Cod	18 028	*Acidum hydrochloricum* N/1	160 ml
Cod	18 494	*Natrium hydricum* N/1	50 ml
Cod	19 023	*Brom tymol blau*	0,01 g

f) *Pseudocolinesteraza serică*

Reactivi : soluţie de acetilcolină 200 mg %; soluţie de hidroxid de sodiu N/100 ; soluţie clorurosodică 9‰ ; soluţie alcoolică de roşu de Cresol 0,04 %.

Tehnică. Într-un pahar Erlenmeyer de 100 ml se pun 20 ml de soluţie clorurosodică izotonă şi 10 ml din soluţia de acetilcolină ; se adaugă 1 ml de ser sanguin. Serul trebuie să provină dintr-un sînge fără urmă de hemoliză, întrucît culoarea serului hemolizat îngreunează citirea virajului la titrare. Se adaugă 2 picături din indicator şi se agită. Se adaugă soluţie de hidroxid pînă la apariţia unei uşoare culori albastre-violete. Se pune la termostat la 37° timp de 20 de minute, dar se titrează la fiecare 5 minute cu hidroxid de sodiu N/100. Suma cantităţilor de hidroxid de sodiu N/100 întrebuinţate la cele 4 titrări succesive, exprimată în mililitri este mijlocul convenţional de exprimare a activităţii pseudocolinesterazelor serice, în condiţiile de lucru enunţate mai sus.

Rezultate. Normal activitatea pseudocolinesterazică corespunde la 4—6 ml de soluţie de hidroxid de sodiu n/100.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	25 g
Cod	18 504	*Natrium hydricum* N/10	50 ml
Cod	19 865	*Kresol rot*	0,01 g
		Acetilcolină 1 ml 200 mg	30 fiole

III. PROBE FUNCŢIONALE

1. PROBA HIPERGLICEMIEI PROVOCATE (Metoda Duncan)

Reactivi : glucoză ; reactivii necesari pentru dozarea glicemiei şi a glicozuriei.

Tehnică. Bolnavul este ţinut în prealabil, timp de 3 zile, la un regim de cel mult 300 g glucide zilnic. În dimineaţa probei, pe nemîncate, uri-

Scanned with OKEN Scanner

nează şi i se dozează glicemia. Apoi ingeră 50 g glucoză, dizolvate în 200 ml apă. La 30 de minute i se dozează din nou glicemia şi se recoltează urina din acest timp. Bolnavul ingeră din nou 50 g glucoză în 300 ml apă ; după 30 de minute (deci la o oră de la începutul probei) se efectuează o nouă dozare de glicemie şi se recoltează urina din a doua jumătate de oră. Se repetă dozarea glicemiei şi recolta de urină şi la 90 de minute de la începutul probei. În cele trei probe de urină, recoltate se caută şi eventual se dozează glucoza. Bolnavul va continua să strîngă toată urina pînă a doua zi dimineaţa, pentru examenul de glucoză.

Rezultate. Glicemia, după 30 de minute, nu depăşeşte 1,60 g‰, iar la 60 de minute scade, chiar sub nivelul iniţial. În nici o probă de urină nu se găseşte glucoză.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 8 088 *Glucose D purum* . . . . . 10,500 g

În plus, substanţele necesare, după metoda întrebuinţată, pentru 400 de dozări de glicemii şi 500 de determinări şi dozări de glicozurii.

2. PROBA CU ROŞU DE CONGO PENTRU DECELAREA DEGENERESCENŢEI AMILOIDE (BENNHOLD)

Reactivi : soluţie de roşu de Congo 1% sterilă.

Tehnică. Se recoltează 10 ml ser dimineaţa pe nemîncate. Se injectează intravenos, pe acelaşi ac, 10 ml din soluţia de roşu de Congo. Se recoltează apoi la 3 minute şi la 60 de minute încă o dată cîte 10 ml sînge. Se separă serurile. Se colorimetrează la fotometrul Pulfrich serurile recoltate după injecţie, cu cuva de 0,2 sau 0,5 cm, cu filtrul S_{50}, avînd ca martor serul dinainte de injecţie. Sîngele trebuie recoltat în cele mai bune condiţii, fără urmă de hemoliză.

Calcularea rezultatului se face după formula :

$$\frac{\text{Ext. 3 min.} - \text{Ext. 60 min.}}{\text{Ext. 3 min.}} \times 100 = \text{colorant dispărut } \%$$

Rezultate. Colorantul dispare din circulaţie între 15 şi 35% ; dispariţia sub 15% arată tulburări hepatice ; dispariţia între 35 şi 65% pledează pentru nefroză sau amiloid ; peste 65% semn de amiloidază.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 19 162 *Congo rot* . . . . . 15 g

3. PROBA GALACTOZURIEI PROVOCATE

Reactivi : galactoză purissimă. Este necesar să se întrebuinţeze un monozaharid foarte pur, pentru că prezenţa altor zaharuri poate influenţa asupra rezultatului ; reactivii necesari pentru cercetarea calitativă a glicozuriei şi pentru dozarea ei.

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică. S-au descris mai multe procedee pentru urmărirea mersului acestei probe. În toate însă bolnavul urinează dimineața, la sculare și apoi, pe nemîncate, ia 40 g galactoză dizolvată în 200—250 ml ceai slab. În cursul zilei, bolnavul își urmează regimul lui alimentar obișnuit. Se urmărește apoi eventuala eliminare a galactozei în urină, care se recoltează la anumite intervale de timp, diferite după autori. Iată procedeul indicat de Fiessinger : urina se strînge în 4 porțiuni, prima în primele 2 ore după ingestie, a 2-a în următoarele 2 ore, a 3-a în următoarele 6 ore, iar a 4-a în restul de 14 ore ale zilei. În fiecare probă de urină se caută galactoza, cu aceleași metode ca acelea pentru glucoză, întrucît galactoza este un corp reducător. Dacă examenul calitativ este pozitiv, se procedează la dozare. Rezultatul în glucoză se înmulțește cu 0,87, galactoza fiind mai intens reducătoare decît glucoza.

Rezultate. Un ficat normal nu elimină de loc galactoza sau elimină în primele două ore o cantitate sub 2 g, la o concentrare sub 0,2 g %.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 8 003 *Galactose D puriss.* . . . . . 4 000 g

În plus, substanțele necesare pentru 400 de determinări calitative și dozările de glucoză în urină.

4. PROBA CU BROMSULFONFTALEINĂ (B.S.P.)

Reactivi : fiole de bromsulfaleină „Terapia" — o fiolă conține 5 ml dintr-o soluție de tetrabromsulfonftaleinat disodic 5% ; soluție de hidrat de sodiu 10%.

Tehnică. Se recoltează pe nemîncate 10 ml sînge. Se injectează pe același ac intravenos, 5 ml colorant pe kg/corp, avînd în vedere că 1 ml din fiolă conține 50 mg colorant. După 3 minute și 45 de minute se recoltează din celălalt braț cîte 10 ml sînge. Recoltele trebuie să fie fără cea mai mică urmă de hemoliză.

Serurile se centrifughează și se procedează apoi ca la proba cu roșu de Congo, lucrînd cu cîte 2 ml ser la care se adaugă 2 picături din soluția de hidroxid de sodiu.

Se citește cu filtrul S_{53}.

Calculul rezultatului se face după aceeași formulă.

Rezultate. În sînge, după 45 de minute, nu se mai găsește decît 5—8% din colorantul injectat.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 12 009 *Natrium hydricum in rotulis* p. a. . . 5 g

Bromsulfalein 5 ml . . . . . 110 fiole

5. PROBA HIPERHIPURICURIEI PROVOCATE (QUICK)

Reactivi : benzoat de sodiu ; clorură de sodiu ; soluție de acid sulfuric N/10 ; soluție de clorură de sodiu 30% ; soluție de clorură de bariu 10% ; soluție de hidroxid de sodiu N/2 ; soluție alcoolică de fenolftaleină 1 g % ; acid acetic glacial.

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică. Dimineaţa, după ingestia micului dejun (ceai cu pîine cu unt) bolnavul bea 6 g de benzoat de sodiu în 30 ml apă. Apoi mai bea încă o jumătate de pahar de apă. Se recoltează apoi urina, timp de 4 ore, fără ca în acest timp bolnavul să mai ia lichide *per os*. Dacă cantitatea de urină emisă depăşeşte 150 ml, ea va fi evaporată pînă la acest volum, după ce i se adaugă cîteva picături de acid acetic glacial. Dacă însă cantitatea este mai mică de 150 ml, urina nu se mai concentrează. Se notează volumul. Apoi se adaugă clorură de sodiu în proporţie de 30 g pentru 100 ml de urină şi se încălzeşte pentru dizolvare. Se răceşte rapid, la 15°, se adaugă 1—2 ml acid sulfuric, amestecînd şi frecînd pereţii vasului, pentru a accelera cristalizarea acidului hipuric. Se filtrează apoi printr-o pîlnie Büchner, cu o uşoară aspiraţie la trompa de apă. Sedimentul se spală cu soluţie clorurosodică 30% pînă cînd în apa de spălare nu se mai află acid sulfuric, identificat prin soluţie de clorură de bariu. Apoi se dizolvă în 100 ml apă fierbinte, chiar în paharul în care s-a făcut precipitarea. Se titrează apoi cu soluţie de hidroxid de sodiu N/2, în prezenţa fenolftaleinei.

Calculul rezultatului se face avînd în vedere că 1 ml de soluţie de hidroxid corespunde la 0,072 g acid hipuric. La rezultat se adaugă un factor de corecţie pentru solubilitatea acidului hipuric de 0,1 g pentru 100 ml de urină.

Rezultate. În 4 ore, după ingestia de 6 g benzoat de sodiu, se elimină 3—3,5 g acid hipuric.

Proba se poate face şi după injecţie intravenoasă de o soluţie conţinînd 1,77 g benzoat de sodiu la 10 ml. Se recoltează urina corespunzătoare primei ore după injecţie.

În aceste împrejurări, se elimină 1—1,4 g acid hipuric.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a.	10 ml
Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	25 ml
Cod 3 761 +)	*Barium chloratum* pt. a	5 g
Cod 11 731	*Natrium benzoicum pulvis puriss.* în probe *per os* 6,50 g în proba intravenoasă	250 g
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	10 000 g
Cod 18 106	*Acidum sulfuricum* N/10	300 ml
Cod 18 496	*Natrium hydricum* N/2	5 000 ml
Cod 20 482	*Phenolphtaleinum*	0,25 g

6. PROBA DE DILUŢIE ŞI CONCENTRARE URINARĂ

Tehnică. Proba constă în a da bolnavului pentru proba de diluţie, să ingere o cantitate de lichid şi apoi a strînge urina în porţiuni de jumătate de oră, timp de 4 ore.

Pentru proba de concentraţie se dă bolnavului să ingere un prînz de substanţe solide (carne, brînză nesărată etc.) cu cît mai puţine lichide. Apoi se strînge urina în porţiuni de 2 ore, timp de 6—8 ore.

Scanned with OKEN Scanner

La toate probele se măsoară cantitatea şi densitatea.

S-au descris mai multe variante ale acestei probe — Volhard-Gurevici — care diferă prin cantitatea de apă care se ingeră (1 500 ml în procedeul Volhard, 600 ml în procedeul Gurevici), natura prînzurilor solide, succesiunea probelor de diluţie şi de concentraţie.

Rezultate. Omul normal elimină în 4 ore întreaga cantitate de apă ingerată, în primele 2 ore mai mult de jumătate, iar densităţile diferitelor porţiuni pot ajunge chiar aproape de 1 000. După prînzul solid, densităţile porţiunilor de urină ajung şi depăşesc chiar 1 030.

Pentru efectuarea acestei probe nu este nevoie de reactivi speciali.

7. DETERMINAREA COEFICIENTULUI DE EPURAŢIE UREICĂ (VAN SLYKE)

Reactivi : aceiaşi ca pentru dozarea ureei sanguine şi urinare.

Tehnică. Bolnavul urinează şi fixează cu precizie momentul în care şi-a golit vezica urinară. Dacă are tulburări de micţiune, urina se va recolta cu sonda. Bea apoi 300 ml apă şi strînge urina în timp de o oră exact. La sfîrşitul acestei ore se recoltează şi sînge pentru dozarea ureei. Bolnavul mai bea încă un pahar cu apă, apoi se recoltează din nou urina, timp de încă o oră. În timpul probei, bolnavul stă în pat, în repaus.

Probele de urină se măsoară şi se deduce debitul urinar pe minut. Se dozează ureea în sînge şi în cele două probe de urină. Întrucît în calculul rezultatelor intră debitul urinar pe minut, este foarte important ca timpul în care s-a recoltat urina să fie exact fixat, iar din urină să nu se piardă nimic.

Calculul rezultatelor. După volumul de urină eliminat într-o oră, se calculează coeficientul de epurare maxim (C_m), atunci cînd volumul pe minut este mai mare de 2 ml/minut şi coeficientul de epurare standard (C_s) cînd debitul urinar este sub 2 ml/minut.

Dacă volumul orar este mai mic de 25 ml, proba nu dă rezultate valabile.

Calculul se face aplicînd formulele următoare, care dau procentul faţă de epurarea maximă sau standard normale.

Pentru C_m $\dfrac{u \times v}{s} \times 1{,}33$ exprimat în procente faţă de normal

Pentru C_s $\dfrac{u \times v}{s} \times 1{,}85$ exprimat în procente faţă de normal

în care u = ureea urinară mg%
s = ureea sanguină mg%
v = volumul urinar în mililitri pe minut.

Rezultatele pentru fiecare oră nu trebuie să difere între ele cu mai mult de 15% ; diferenţe mai mari înseamnă că a intervenit o greşeală, în special la recoltarea urinii.

La omul normal coeficientul de epuraţie maxim $\dfrac{u \times v}{s}$ variază în jurul a 75 ml pe minut, iar cel standard $\dfrac{u \times v}{s}$ în jurul a 54 ml pe minut.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultatele exprimate în procente, sub 70 % din normal se pot considera patologice.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 9 856 +)	*Kalium sulfuricum* pt. a.	350 g
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	800 g

Dacă se întrebuinţează aparatul Kowarski (original) cantităţile de mai sus sînt de 2—3 ori mai mari.

Cod 1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	60 g
Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	200 ml
Cod 4 287	*Bromum* p. a.	15 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	200 g

8. CLEARANCE-UL CREATININEI ENDOGENE

Reactivi : aceiaşi ca la dozarea creatininei în sînge şi urină.

Tehnică. Se execută dimineaţa, bolnavul fiind pe nemîncate din ajun. După ce a urinat, bolnavul bea 250 ml ceai slab, fără zahăr. Apoi strînge toată urina pe un interval de 3 ore, respectînd cu exactitate timpul. În tot acest timp nu mai bea şi nu mai mănîncă nimic şi stă în repaus la pat. La o oră şi jumătate de la începutul probei, se recoltează sînge.

Urina se măsoară exact, se calculează debitul pe minut şi se dozează creatinina. De asemenea se dozează creatinina din serul sanguin.

Calculul rezultatului se face aplicînd formula :

$$\frac{\text{Creatinină urinară mg \%}}{\text{Creatinină serică mg \%}} \times \text{volumul urinii în mililitri/minut, exprimat în mililitri.}$$

Rezultate. Valoarea normală la omul sănătos variază în jurul a 140 (100—190) la bărbat şi 135 (100—150) ml/minut.

Proba se poate executa şi fără ca bolnavul să bea ceaşca de ceai.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 397	*Acidum picricum* p. a.	63 g
Cod 1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	120 g
	sau	
Cod 18 096	*Acidum sulfuricum* N/1	200 ml
Cod 5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	10 ml
Cod 5 865	*Creatininum* p. a.	0,15 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	55 g
Cod 12 429	*Natrium wolframicum* p. a.	25 g
Cod 18 034	*Acidum hydrochloricum* N/10 . . .	15 ml

9. PROBA CU FENOLSULFONFTALEINĂ (P.S.P.)

Reactivi : soluţie de fenolsulfonftaleină 6 g‰ ; soluţie de hidrat de sodiu 30 %.

Tehnică. Bolnavul urinează ; în caz de tulburări de micţiune, vezica urinară se goleşte cu sonda. I se injectează apoi intramuscular

Scanned with OKEN Scanner

1 ml din soluția sterilă de fenolsulfonftaleină. Timp de 70 de minute se recoltează întreaga cantitate de urină emisă.

Urina se pune într-un cilindru de 1 000 ml ; se adaugă 3 ml din soluția de hidroxid de sodiu și se completează cu apă de robinet pînă la 1 000.

În alt cilindru de 1 000, se face proba martor. Se pune 1 ml din soluția injectată, se adaugă 3 ml de soluție de hidroxid de sodiu și se completează cu apă pînă la 1 000.

Se citește la fotometrul Pulfrich, cu cuva de 5 mm, cu filtrul S_{53}, avînd ca martor apa, extincțiile diluției martor a colorantului și apoi a diluției de urină.

Rezultatul se calculează după formula :

$$100 - \frac{\text{E. martor} - \text{E. urină}}{\text{E. martor}} = \text{colorant \% eliminat.}$$

Colorimetrarea se poate face și la colorimetrul Dubosque.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	110 g
Cod 20 490	*Phenol rot*	0,7 g

IV. EXAMENELE DE LICHID CEFALORAHIDIAN

Lichidul de examinat se obține prin puncție lombară sau suboccipitală.

EXAMENUL FIZIC

Lichidul normal este limpede și incolor. El poate păstra aceste aspecte și în multe cazuri patologice. Lichidul poate fi ușor opalescent sau franc tulbure, avînd aspectul unui puroi foarte diluat. Poate avea și aspectul hemoragic, sanguinolent, mai intens sau mai slab. El poate fi limpede, dar colorat în galben — lichid xantocromic — prin transformarea pe loc a hemoglobinei, provenite din hemoragii intrarahidiene, în bilirubină.

Pentru examenul fizic al lichidului cefalorahidian nu este nevoie de reactivi chimici speciali.

Pentru formarea de văl, care se observă în unele lichide patologice, produsul recoltat trebuie lăsat în repaus cel puțin 10—20 de ore.

EXAMENUL CHIMIC

A. CERCETAREA PROTEINELOR

Lichidul cefalorahidian conține o cantitate mică, față de serul sanguin, de proteine, între 0,15—0,30 g ‰.

Scanned with OKEN Scanner

1. REACŢII PENTRU DECELAREA HIPERGLOBULINORAHIILOR

a) *Reacţia Pandy*

Reactivi : soluţie saturată de fenol.

Prepararea soluţiei. Soluţia saturată de fenol se prepară punînd într-un flacon de 200 ml 10—15 g fenol cristalizat, peste care se adaugă 100 ml apă distilată. Se agită bine şi se lasă la termostat la 27°, timp de 24 de ore. Soluţia se desparte în două straturi, unul la fundul flaconului, roşu-brun, uleios, constituit din fenol care a fixat apă, şi altul deasupra, limpede, incolor, ca apa, constituind soluţia saturată de fenol. Acest strat superior se trece cu grijă în alt flacon. El constituie reactivul fenolic Pandy.

Tehnica reacţiei. Într-o eprubetă se măsoară 3—4 ml soluţie fenolică Pandy, în care se lasă să cadă o picătură de lichid cefalorahidian. Dacă lichidul conţine globuline în cantitate normală, se observă picătura de lichid căzînd spre fundul eprubetei, lăsînd în urmă o dîră transparentă, sirupoasă. Reacţia este în acest caz negativă. Dacă lichidul conţine o cantitate crescută de globuline, atunci se formează o dîră tulbure, albăstruie, ca fumul de ţigară, mai mult sau mai puţin intensă, după cantitatea mai mare sau mai mică a globulinelor.

Rezultate. După intensitatea norului format, rezultatul se înseamnă cu $^{+}$, $^{++}$, $^{+++}$ sau $^{++++}$. Reacţia se citeşte imediat după adăugarea picăturii de lichid în reactiv. După cîteva minute, chiar lichidele cu conţinut normal în globuline dau o reacţie subpozitivă.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 581 *Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . . 7 g

b) *Reacţia Nonne-Appelt*

Reactivi : soluţie saturată de sulfat de amoniu.

Prepararea soluţiei. După tehnica descrisă la dozarea gravimetrică a proteinelor.

Tehnică. Într-o eprubetă de hemoliză se pun 0,5—1 ml soluţie saturată de sulfat de amoniu, controlată ca să fie alcalină. Se adaugă o aceeaşi cantitate — 0,5 pînă la 1 ml de lichid cefalorahidian, prelingîndu-l pe peretele eprubetei, aşa ca cele două lichide să nu se amestece. Reacţia se citeşte după 3—4 minute. Dacă în produsul examinat globulinele sînt crescute, atunci la limita de separaţie dintre cele două lichide apare un disc tulbure, cu atît mai intens şi mai larg, cu cît creşterea globulinelor este mai mare.

Rezultatul se dă cu $^{+}$, $^{++}$, $^{+++}$ sau $^{++++}$, după intensitate. Dacă discul nu apare în acest interval de timp, reacţia este negativă.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	25 ml
Cod 3 103 +)	*Ammonium sulfuricum* pt. a.	110 g
Cod 21 040	*Papier lackmus neutrale*	50 de benzi

c) *Reacţia cu benzoe coloidală Guillain-Laroche-Lechelle*

Reactivi : tinctura de benzoe.

Prepararea soluţiei. Tinctura de benzoe se prepară din 10 g rezină de benzoe fin pulverizată, peste care se adaugă 100 ml alcool absolut. Se agită bine, se închide flaconul cu dop rodat, se pune la 37° cîteva zile. Apoi se separă reziduul prin centrifugare sau filtrare. Supernatantul se păstrează în flacon bine astupat.

Tehnică. Reacţia se face în 16 eprubete de hemoliză. În eprubeta nr. 1 se pun 0,25 ml apă bidistilată, în eprubeta 2 — 0,5 ml, în eprubeta 3 — 1,5 ml, iar în celelalte cîte 1 ml. Se adaugă în eprubeta nr. 1 0,75 ml lichid şi în eprubetele 2 şi 3 cîte 0,5 ml din lichidul de examinat. Se amestecă conţinutul eprubetei 3, suflînd cu pipeta, se ia 1 ml şi se trece în eprubeta 4 şi aşa mai departe pînă la eprubeta 15 inclusiv. Eprubeta 16 rămîne ca martor, numai cu apă bidistilată.

Se adaugă apoi în fiecare eprubetă cîte 1 ml dintr-o suspensie de benzoe preparată extemporaneu din 0,3 ml de tinctură suspendată în 20 ml apă bidistilată încălzită la 35°. Suspensia are un aspect tulbure lăptos. Se agită tuburile şi se lasă la temperatura laboratorului. Rezultatul se citeşte la 24 de ore. Eprubeta în care suspensia se menţine tulbure, fără precipitat, se înseamnă cu cifra 0 ; apariţia de precipitat într-un lichid încă tulbure se înseamnă cu 1 ; un precipitat alb la fundul eprubetei cu un supernatant perfect limpede se înseamnă cu 2.

Rezultatul se dă înşirînd cifrele obţinute începînd cu eprubeta 1. Rezultat normal : 00 000 02 110 00 000 0.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 2 336 a	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	40 g
	Resina benzoe de Sumatra	4 g

2. DOZAREA PROTEINELOR

a) *Metoda Heller*

Reactivi : acid azotic concentrat ; soluţie de clorură de sodiu 0,4 g %.

Tehnică. Se diluează lichidul cefalorahidian 1/10 cu soluţia clorurosodică ; într-o serie de 5 tuburi de hemoliză se pune în primul şi al doilea tub cîte 1 ml din produsul diluat ; în tuburile 2 pînă la 6 se pun cîte 1 ml de soluţie clorurosodică. Se amestecă, în tubul 2, lichidul diluat, barbotînd cu o pipetă de 1 ml ; se ia 1 ml şi se adaugă în tubul 3 ; se amestecă cu pipeta şi se trece un ml în tubul 4 şi aşa mai departe. Se obţin diluţii de 1/10, 1/20, 1/40, 1/80 şi 1/160 ale lichidului. Se adaugă apoi, începînd cu ultima eprubetă şi introducînd pipeta în fundul eprubetei, 0,5 ml de acid azotic concentrat, avînd grijă ca, înainte de a introduce pipeta în lichidul diluat, să o ştergem de acidul de pe exte-

Scanned with OKEN Scanner

riorul ei. După un minut se citeşte în care dintre diluţii apare, la limita de separaţie dintre acid şi diluţia de lichid, un disc tulbure. Această diluţie conţine 0,033 g ‰. Înmulţind 0,033 cu diluţia, obţinem conţinutul în albumine exprimat în grame la litru de lichid cefalorahidian. Pentru determinări mai exacte, se poate adapta metoda făcînd diluţii convenabile, mai mari decît prima diluţie în care apare precipitatul, dar mai mici decît diluţia în care el nu mai apare.

Rezultate. Un lichid cefalorahidian normal conţine între 0,15 şi 0,30 g proteine la litru.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 193	*Acidum nitricum fumans* D=1,52 p. a.	500 ml
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	40 g

b) *Metoda Sicard şi Cantaloube*

Reactivi : soluţie de acid tricloracetic 33 g %.

Tehnică. Într-un rahialbuminometru Sicard se pune lichid cefalorahidian pînă la marca 4 ml ; se introduce tubul într-o baie cu apă clocotindă şi se ţine pînă ce lichidul se încălzeşte, fără însă să fiarbă. Se adaugă în lichidul cald 12 picături din soluţia de acid tricloracetic, se astupă tubul cu un dop de cauciuc şi apoi se agită energic. Tubul se aşează vertical şi se lasă astfel pînă a doua zi. La fund se lasă un precipitat de proteine. Se citeşte gradaţia de pe tub pînă la care a ajuns precipitatul de proteine.

Primei gradaţii	îi corespunde o cantitate de	0,22 g‰
Celei de a doua	„ „ „ „ „	0,40 g‰
„ „ „ treia	„ „ „ „ „	0,56 g‰
„ „ „ patra	„ „ „ „ „	0,71 g‰
„ „ „ cincea	„ „ „ „ „	0,85 g‰

Dacă lichidul conţine o cantitate mai mare de proteine, dozarea se va repeta pe lichid convenabil diluat 1/2, 1/3 etc., iar la rezultat se va avea în vedere diluţia. Dacă nu avem o cantitate suficientă de lichid, dozarea se poate face numai pe 2 sau 3 ml. În acest caz rezultatele se înmulţesc cu 2, respectiv cu 1,33.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 609	*Acidum tricloraceticum* p. a.	33 g

B. CERCETAREA ALTOR CONSTANTE BIOCHIMICE

1. DOZAREA CLORURILOR

Metoda Volhard (Laudat)

Reactivi : soluţie de nitrat de argint N/50 ; soluţie de clorură de sodiu ; soluţie de cromat de potasiu 7% ; soluţie de sulfocianat de amoniu N/50 ; soluţie de acid azotic 25% ; soluţie saturată la rece de feriamoniu sulfat (alaun de fier amoniacal) ; soluţie saturată la rece de permanganat de potasiu ; alcool octilic ; glucoză în substanţă ; acid sulfuric concentrat.

Scanned with OKEN Scanner

Soluția de nitrat de argint N/50

Se prepară la balon cotat, din soluție de nitrat de argint N/10, 20 ml (măsurat cu pipetă cu bulă) la 100 ml de apă bidistilată.

Soluția N/10 se prepară din 16,988 g nitrat de argint ținut în prealabil 24 de ore în exsicator, la întuneric pe acid sulfuric concentrat la balon cotat, la 1 000 ml apă bidistilată. Sau se poate prepara din 17 g nitrat de argint dizolvat la 1 000 ml apă bidistilată și se stabilește apoi titrul cu o soluție N/10 clorură de sodiu, în prezența cromatului de potasiu 7% ca indicator.

Soluția de clorură de sodiu N/10

Se prepară din 5,844 g clorură de sodiu uscată la exsicator, pe acid sulfuric, la 1 000 ml apă bidistilată.

Soluția de sulfocianat de amoniu N/50

Se prepară dintr-o soluție stoc N/10. Aceasta conține 7,611 g sulfocianat (rodanat) de amoniu la 1 000 ml apă.

Titrul soluției se stabilește cu soluția N/10 de nitrat de argint, în prezența de acid azotic, ca indicator folosind o soluție saturată de feriamoniu sulfat.

Soluție saturată la rece de feriamonium sulfat (alaun de fier amoniacal).

Se prepară din aproximativ o parte substanță la o parte apă distilată. Se adaugă picătură cu picătură acid azotic concentrat, pînă la dispariția coloratiei brune a soluției.

Soluție saturată la rece de permanganat de potasiu

Se prepară din aproximativ o parte substanță la 8 părți apă distilată.

Tehnică. Într-un pahar Erlenmeyer de 100 ml se pun 2 ml de lichid cefalorahidian, 2—3 ml acid azotic 25% și 20 ml soluție N/50 de nitrat de argint (măsurat cu pipeta cu bulă). Se adaugă 15—20 ml apă bidistilată, 2—3 picături din soluția saturată de permanganat, pentru distrugerea materiilor organice și 1—2 picături de alcool octilic pentru a opri formarea de spumă. Se fierbe la flacără ușoară, pînă la depunerea precipitatului alb de clorură de argint și obținerea unui lichid supernatant limpede. Dacă supernatantul mai rămîne încă ușor rozat, din cauza permanganatului, se adaugă un vîrf de cuțit de glucoză și se continuă fierberea pînă la decolorarea lichidului supernatant. Se lasă să se răcească la întuneric. Se titrează apoi excesul de nitrat de argint cu o soluție de sulfocianat de amoniu, în prezența a 4 ml de soluție de feriamoniu sulfat și de 4—5 ml acid azotic 25%, pînă la apariția persistentă a unei culori roz. Numărul de mililitri se scade din 20, iar restul se împarte la 2. Rezultatul, înmulțit cu 1 000 ne dă conținutul în clorură de sodiu la litru de lichid cefalorahidian.

Rezultate. 7,25—7,50 g ‰.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 189	*Acidum nitricum* (—Cl, Pb) D = 1,42 p. a.	175 ml
Cod 1 512 +)	*Acidum sulfuricum* D = 1,83	500 g
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	10 g
	sau	
Cod 18 170	*Argentum nitricum* N/10	600 ml
	sau	
Cod 18 174	*Argentum nitricum* N/50	2 500 ml
Cod 7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.	300 g

Scanned with OKEN Scanner

Cod	9 614	*Kalium chromicum* p. a.	0,50 g
Cod	9 769 +)	*Kalium permanganicum* pt. a.	3 g
Cod	9 823	*Kalium rhodanatum* p. a.	3 g
		sau	
Cod	18 416	*Kalium thyocyanatum* N/10	300 ml
Cod	11 864 A	*Natrium chloratum Sörensen* p. a. . .	7 g
Cod	18 486	*Natrium chloratum* N/10	150 ml

2. DETERMINAREA GLUCOZEI (GLICORAHIA)

a) *Reacţia orientatoare Heine*

Reactivi : reactivul Heine.

Prepararea soluţiilor

Reactiv Heine :

Sulfat de cupru	2 g
Apă distilată	15 ml
Glicerină	15 ml
Soluţie de hidroxid de potasiu 5% .	150 ml

Tehnică. 1 ml din reactiv este fiert 10—15 secunde într-o eprubetă, la flacără ; reactivul nu trebuie să-şi schimbe culoarea albastră. Se adaugă apoi 1 ml de lichid cefalorahidian ; se mai fierbe cîteva secunde.

Rezultate. Cu un lichid normal, cu conţinut în glucoză în jurul a 0,60 g‰, reactivul virează la o culoare roşie gălbuie ; în cazul unei scăderi moderate, în jurul a 0,30 g‰, se obţine o culoare violetă ; în hipoglicorahiile mari sub 0,20 g‰, reactivul rămîne colorat albastru.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	6 032	*Cuprum sulfuricum anhydricum* p. a.	1,5 g
Cod	8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	12 ml
Cod	9 672	*Kalium hydricum in rotulis* p. a. . .	6 g

b) *Dozarea glicorahiei*

Se poate executa printr-unul din procedeele descrise la dozarea glucozei sanguine.

Rezultate : 0,60 g‰.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Metoda Denigès, modificată de Alin Popescu

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	130 g
Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	1 ml
Cod	6 032	*Cuprum sulfuricum anhydricum* p. a.	2 g
Cod	8 094	*Glucose anhydricum* p. a.	1 g
Cod	9 641 +)	*Kalium ferro cyanatum* p. a.	10 g
Cod	9 732 +)	*Kalium natrium tartaricum* pt. a. . . .	10 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	350 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis p. a.* . .	45 g

Scanned with OKEN Scanner

Micrometoda Hagedorn-Jensen

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a.	12 ml
Cod	3 210	*Amylum solubile* pt. a.	1 g
Cod	9 639	*Kalium ferri cyanatum* p. a.	1,5 g
Cod	9 695 b	*Kalium jodatum* p. a.	1,2 g
Cod	9 700	*Kalium jodicum* p. a.	0,2 g
Cod	11 843 B	*Natrium carbonicum* p. a.	15 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	250 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis p. a.*	2 g
		sau	
Cod	18 504	*Natrium hydricum* N/10	400 ml
Cod	12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	1,5 g
		sau	
Cod	18 556	*Natrium thiosulfuricum* N/10	20 ml
Cod	17 398 +)	*Zincum sulfuricum* pt. a.	50 g

Metoda colorimetrică Folin-Wu

Cod	495	*Acidum benzoicum* p. a.	0,50 g
Cod	1 094	*Acidum molibdaenicum* p. a.	45 g
Cod	1 366	*Acidum phosphoricum* 85% D = 1,71 p. a.	150 ml
Cod	1 546	*Acidum tartaricum cryst.* p. a.	6 g
Cod	6 030 +)	*Cuprum sulfuricum oxydatum* pt. a.	4 g
Cod	8 094	*Glucose anhydricum* p. a.	1 g
Cod	11 843 B	*Natrium carbonicum anhydricum* p. a.	30 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis p. a.*	25 g
Cod	12 429	*Natrium wolframicum* p. a.	45 g
Cod	18 096	*Acidum sulfuricum* N/1	25 ml

3. DOZAREA UREEI

Se face după metoda Kowarski, cu aparatul Alin Popescu, la fel ca în serul sanguin.

Rezultate. Conținutul normal în uree al lichidului cefalorahidian este de 0,20—0,25 g ‰.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	9 856 +)	*Kalium sulfuricum* pt. a.	350 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	800 g

Dacă se întrebuințează aparatul Kowarski (original) cantitățile de mai sus sînt de 2—3 ori mai mari.

Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	60 g
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	200 ml
Cod	4 287	*Bromum* p. a.	15 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis p. a.*	200 g

Scanned with OKEN Scanner

4. REACȚIA TRIPTOFANULUI VOISINET

Reactivi : acid clorhidric concentrat ; soluție de formol 2 ml % ; soluție de nitrit de sodiu 0,6 %.

Tehnică. Într-o eprubetă se pun 3—4 ml din lichidul de examinat peste care se adaugă 15 ml acid clorhidric concentrat și 2 picături de soluție de formol 2%. Se amestecă răsturnînd o dată eprubeta astupată cu degetul. După 5 minute se adaugă cu grijă prelingînd pe peretele eprubetei 2 ml din soluția de nitrit de sodiu.

Rezultate. Dacă reacția este pozitivă, apare la locul de contact dintre cele două soluții un inel violet.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	1 750 ml
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	1 ml
Cod	12 124	*Natrium nitrosum in baccilis* p. a. . .	2 g

C. EXAMENUL SEDIMENTULUI

Se face direct și după centrifugare.

Elementele citologice se numără direct în lichid necentrifugat în celula Nageotte sau Fuchs—Rosenthal. De obicei, acest examen nu cere reactivi speciali. Cînd însă sînt prezente hematii (și pentru a le diferenția de celelalte elemente citologice din lichid), se diluează întîi lichidul în părți egale cu soluția Türck, care lizează hematiile (cam 0,5 ml din ambele) și apoi se face numărătoarea elementelor la celulă. La rezultat se are în vedere diluția.

Rezultate. Un lichid normal conține pînă la 3—4 leucocite pe milimetru cub (limfocite). Pentru examenele mai amănunțite ale citologiei lichidiene sau pentru examene bacterioscopice se fac frotiuri cu procedeele May Grünwald—Giemsa, albastru de metilen, Gram, Ziehl—Neelsen etc., din sediment.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	1 ml

V. EXAMENELE DE SUC GASTRIC

1. RECOLTAREA SUCULUI GASTRIC

Sucul gastric se recoltează fie în probă unică, precedată de un prînz de probă, fie după procedeul general întrebuințat astăzi, prin tubaj fracționat.

Prînzul de probă cel mai întrebuinţat este prînzul alcoolizat, compus din apă alcoolizată 5%, colorată cu 2—3 picături soluţie de albastru de metilen 1%.

În unele cazuri, în loc de prînz de probă se indică examenul sucului după o injecţie de 0,5—1 mg histamină.

Sînt mai multe procedee de aplicare a tubajului fracţionat. Cel mai recomandabil este procedeul Leporski.

Sucul se extrage cu sonda Einhorn, introdusă fie pe gură, fie printr-una dintre nări.

Tubajul se face dimineaţa, pe nemîncate. După introducerea sondei în stomac (cînd sonda ajunge la nivelul arcadei dentare la diviziunile 45—50), se scoate cu o seringă de 20 ml, aspirînd tot conţinutul. Acesta constituie staza. Apoi se introduce prin sondă 400 ml apă alcoolizată. La 25 de minute se extrage tot lichidul din stomac. Acest lichid constituie rezidiuul. După aceea, de 4, 5 sau 6 ori, la interval de cîte 15 minute, se extrage din nou cu seringa, tot conţinutul gastric.

2. EXAMENUL FIZIC

Se măsoară volumul lichidului de stază, al reziduului precum şi al fiecărei porţiuni extrase la cîte 15 minute. Din acestea (4—5 sau 6) se calculează volumul corespunzător unei ore, ceea ce constituie efortul de o oră, noţiune importantă pentru clinică.

Se mai apreciază aspectul şi culoarea sucului extras. Secreţia normală este aproape incoloră, foarte uşor tulbure; cea după prînzul alcoolizat este albăstruie, din cauza albastrului de metilen. O culoare galbenă-verzuie este datorită unui reflux biliar din duoden. În caz de hemoragie, lichidul de stază are o culoare negricioasă, ca zaţul de cafea.

3. EXAMENUL CHIMIC

a) *Examenul acidităţilor*

Reactivi: soluţie de hidroxid de sodiu N/10; reactiv Töpfer—Linossier.

Prepararea soluţiilor

Reactiv Töpfer-Linossier:

dimetilaminoazobenzol	0,5 g
fenolftaleină	1 g
alcool 96°	100 ml

Tehnică. Din fiecare porţiune extrasă (stază, reziduu şi fracţiuni de sfert de oră) se pun într-un balon Erlenmeyer de 100 ml cîte 10 ml (sau numai 5 cînd sucul nu este suficient) din sucul filtrat sau centrifugat; se adaugă 10 ml de apă distilată şi 3—4 picături din reactivul indicator. Dacă sucul gastric conţine acid clorhidric liber, apare o culoare roşie, intensă. Dacă sucul nu conţine acid clorhidric liber, ci numai combinat, atunci apare o culoare roşie portocalie (saumon). Dacă nu conţine de loc acid clorhidric, atunci apare o culoare galbenă ca lămîia.

Titrarea acidităţilor se face cu soluţie de hidroxid de sodiu N/10, cu ajutorul unei biurete Mohr de 25—50 ml.

Scanned with OKEN Scanner

În cazul prezenței de acid clorhidric liber (coloraţie roşie, vie) picurăm soluţia de hidroxid din biuretă pînă la virajul în portocaliu. Notăm numărul de mililitri de hidroxid întrebuinţat — valoarea A. Continuăm titrarea pînă la apariţia culorii galbene ; notăm numărul de mililitri întrebuinţaţi de la începutul titrării — valoarea B. Continuăm titrarea pînă la apariţia unei culori roşii (datorită fenolftaleinei în mediu alcalin) ; notăm numărul de mililitri întrebuinţaţi de la începutul titrării — valoarea C.

Calcularea rezultatelor. Valoarea A înmulţită cu 10 (cînd lucrăm pe 10 ml suc) sau cu 20 (cînd lucrăm pe 5 ml suc) corespunde acidului clorhidric liber la 100 ml suc. Valoarea medie între B şi C (adică $\frac{B+C}{2}$), înmulţită ca mai sus ne dă acidul clorhidric total. Acidul clorhidric combinat rezultă din diferenţa dintre acidul total şi cel liber. Aciditatea totală corespunde valorii C, înmulţită cu 10 sau 20 (după cantitatea de suc cu care am lucrat).

Rezultate. Dacă sucul nu conţine acid clorhidric liber se titrează de la culoarea portocalie, la galben şi apoi la roşu. Se obţin numai valorile B şi C. Dacă sucul nu conţine de loc acid clorhidric, atunci titrăm de la galben la roşu, obţinînd numai valoarea C.

Pentru clinică sînt deosebit de importante dozarea acidului clorhidric liber (prescurtat H) şi a acidităţii totale (prescurtat A).

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	20 ml
Cod 6 703	*Dimethylamino azo benzol para* p. a. .	0,10 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	25 g
	sau	
Cod 18 504	*Natrium hydricum* N/10	5 000 ml
Cod 20 482	*Phenolphtaleinum*	0,30 g

b) *Determinarea acidului lactic*

Reacţia calitativă Uffelmann

Reactivi : soluţie de fenol ; soluţie de perclorură de fier 10 g %.

Tehnică. La 10 ml din soluţia de fenol pusă într-o eprubetă obişnuită, se adaugă 1 picătură din soluţia de perclorură de fier ; se amestecă ; amestecul ia o culoare de ametist, deschisă. Se adaugă 5—7 picături de suc gastric filtrat. În cazul prezenţei de acid lactic, pe dîra care se formează pe drumul sucului care pică la fundul eprubetei şi la fundul acesteia, unde se adună sucul, se dezvoltă o culoare galbenă-deschisă, ca penele de canar, datorită lactatului de fier.

Rezultate. După intensitatea coloraţiei, prezenţa acidului lactic se înseamnă cu $^{+}$, $^{++}$ sau $^{+++}$.

Sucul normal nu conţine acid lactic în cantităţi decelabile prin această reacţie calitativă, de altfel nespecifică.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	20 g
Cod 7 738	*Ferrum sesquichloratum cryst.* p. a. .	0,5 g

Scanned with OKEN Scanner

c) *Cercetarea sîngelui*

Se face ca examenul hematuriei, cu reacţia Adler.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	150 g
Cod	3 895	*Benzidinum* p. a.	30 g
Cod	8 859	*Hydrogenium peroxidatum* 30% p. a.	15 ml

Rezultatele unui suc gastric normal

Stază pînă la . . . . 20—30 ml
Reziduul . . . . . 70—80 ml
Efortul de o oră . . . 70—80 ml
Acidul clorhidric liber 20—40 ml soluţie de hidroxid de sodiu N/10
Aciditate totală 40—60 ml soluţie de hidroxid de sodiu N/10
Acizi de fermentaţie — absenţi
Sînge — absent

Aciditatea sucului gastric se poate exprima şi în acid clorhidric, considerînd că 1 ml de soluţie de hidroxid de sodiu N/10 corespunde la 0,003 65 g acid clorhidric.

VI. EXAMENELE CONŢINUTULUI DUODENAL

1. RECOLTAREA CONŢINUTULUI DUODENAL

Conţinutul duodenal se obţine prin tubaj duodenal, care se efectuează cu sonda cu bulă olivară, Einhorn, care trece din stomac prin pilor, în duoden pînă la marca 60—65 cm de la arcada dentară. Lichidul care se scurge prin sondă sau care este extras cu seringa din duoden are culoare galbenă şi reacţie alcalină, luată cu hîrtie de turnesol. Controlul prezenţei sondei în duoden se face şi prin examen radiologic.

Reactivi necesari (pentru 100 de tubaje duodenale)

Cod	10 741 +)	*Magnesium sulfuricum purif.*	1 400 g
		Ulei de măsline	700 g

2. EXAMENUL BILEI

Bila se obţine prin tubaj, după excitarea căilor biliare, fie prin injectarea prin sonda Einhorn, de 40 ml soluţie sulfat de magneziu 33% — proba Melzer-Lyon — fie de 5—6 ml de ulei de măsline.

Examenul bilelor A, B şi C, la care se apreciază cantitatea, limpezimea, culoarea etc., nu cere reactivi speciali.

Examenul microscopic al bilei. Se execută pentru decelarea elementelor celulare (leucocite, hematii, celule epiteliale), biliare (bilirubinaţi,

Scanned with OKEN Scanner

colesterină) sau inflamatoare (mucus), fie pe sedimentul spontan, fie după centrifugare, pe un preparat proaspăt între lamă și lamelă.

Examenul sedimentului nu cere reactivi speciali.

Pentru examenul bacteriologic și parazitologic, vezi capitolul special.

3. EXAMENUL SUCULUI PANCREATIC (FERMENȚI)

Se face în lichidul duodenal care se scurge după ce sonda Einhorn a ajuns în duoden sau, mai bine, după excitarea pancreasului, care se obține introducînd prin sondă 3—4 ml eter sulfuric. Se așteaptă 10—15 minute și apoi se extrage conținutul duodenal, care este constituit aproape în întregime din suc pancreatic.

Se cercetează activitatea amilazei, lipazei și tripsinei.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 770 *Aether aethylicus* pt. a. . . . . 700 ml

a) *Determinarea activității amilazice*

Tehnică. Se efectuează după metoda Wohlgemuth, ca în serul sanguin, cu deosebirea că se lucrează pe sucul diluat 1/10.

Rezultate. Rezultatele se citesc ca la determinarea activității diastazice serice și se corectează, avînd în vedere diluția.

Valorile normale variază între 320 și 640 u.W. ; în sucurile culese fără excitație, după 20—30 de minute de la introducerea sondei. După excitație cu eter, valorile cresc la 960—3 480 de unități.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 3 210	*Amylum solubile* pt. a.	2,5 g
Cod 9 374	*Jodum metallicum resublimatum* pss. .	1 g
Cod 9 695 b	*Kalium jodatum* p. a.	2 g
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	15 g

b) *Determinarea activității lipazelor*

Metoda Bondi, Chiray și Lebon

Reactivi : ulei de măsline ; alcool 95% ; soluție de hidroxid de sodiu N/10 ; soluție alcoolică de fenolftaleină 1 g %.

Tehnică. Peste 10 ml de ulei de măsline se pun 2 ml de lichid proaspăt recoltat și se agită energic. Uleiul se emulsionează. Se ține apoi la termostat la 37—39° timp de o oră. Se adaugă 60 ml alcool și apoi se titrează cu soluție de hidroxid de sodiu N/10, în prezența fenolftaleinei pînă la apariția culorii roz persistentă. În același timp se titrează aciditatea uleiului de măsline. Se scade cifra obținută, exprimată în mililitri soluție de hidroxid, din cifra obținută după digestie, exprimată tot în mililitri. Această ultimă cifră reprezintă rezultatul probei.

Rezultate. La omul normal, cifra variază între 50 și 60 ml soluție hidroxid de sodiu N/10.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	13 000 ml
Cod 13 334	*Oleum olivarum purum*	2 200 g
	sau, în lipsă, ulei de măsline din comerț	
Cod 18 504	*Natrium hydricum* N/10	10 000 ml
Cod 20 482	*Phenolphtaleinum*	0,25 g

c) *Determinarea activității tripsinei*

Metoda cu cazeină Gross-Fuld

Reactivi : cazeină ; soluție de acid acetic 10%.

Prepararea soluțiilor

Soluție de cazeină :

Cazeină	1 g
Bicarbonat de sodiu soluție 1% . .	1 000 ml

Se fierbe și se adaugă cîteva picături de cloroform pentru conservare.

Tehnică. Lichidul duodenal proaspăt și filtrat se diluează cu apă distilată 1/100. Se adaugă apoi 0,1 — 0,2 — 0,3 — 0,5 — 0,7 și 1 ml din această diluție peste cîte 10 ml din soluția de cazeină, repartizată în 6 eprubete. Se ține 3 ore la termostat la 37°. După aceea se adaugă în fiecare eprubetă cîte 3 picături din soluția de acid acetic. În eprubetele în care mai există cazeină, apare un precipitat.

Rezultate. La omul normal cazeina este complet digerată în eprubetele cu diluțiile de 0,5—1 ml diluție de suc.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a.	10 ml
Cod 5 282	*Caseinum purum*	7 g
Cod 11 743 +)	*Natrium bicarbonicum* pt. a.	70 ml

VII. EXAMENELE MATERIILOR FECALE

1. EXAMENUL FIZIC

Cantitatea, aspectul, culoarea, consistența, mirosul — nu necesită reactivi pentru executarea lor.

2. EXAMENUL CHIMIC

a) *Reacția*

Reacția se apreciază cu hîrtie de turnesol. Scaunul normal are o reacție neutră.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 21 040 *Papier lackmus neutrale* . . . . . 60 de benzi

b) *Cercetarea pigmenţilor biliari: reacţia cu sublimat Schmidt*

Reactivi : soluţie saturată de biclorură de mercur 6,5%.

Tehnică. Se mojarează 3 g de materii fecale în 100 ml apă. Apoi, într-un cilindru gradat, se pun 15 ml de emulsie pentru care se adaugă 2 ml din soluţia de sublimat. După 30 de minute pînă la 24 de ore apare coloraţia caracteristică, roşie-cărămizie pentru stercobilină, verde pentru bilirubina netransformată.

Rezultate. Materiile fecale normale conţin pigmenţi biliari sub formă de stercobilină.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 8 716 A *Hydrargyrum bichloratum cryst.* p. a. 15 g

c) *Cercetarea proteinelor*

Reactivi : soluţie de acid acetic 1/3 ; soluţie concentrată de amoniu ; soluţie de acid tricloracetic 40 % ; soluţie saturată de biclorură de mercur 6,5 g% ; reactiv fosfotungstic Folin-Denis (acelaşi care se întrebuinţează la dozarea acidului uric în sînge).

Tehnică. Se face la mojar o emulsie de 3 g materii fecale în 100 ml apă. Apoi se repartizează în 4 eprubete cîte 15 ml din această emulsie.

Într-o eprubetă se picură o picătură de soluţie de amoniac şi apoi se adaugă 2 ml din soluţia de acid acetic. Apariţia unui precipitat arată prezenţa de mucus.

Într-o altă eprubetă se pun 2 ml din soluţia de acid tricloracetic. Apariţia unui precipitat arată prezenţa mucinei şi a albuminelor serice.

Într-o a treia eprubetă se pun 2 ml din soluţia de sublimat. O precipitare în această eprubetă arată prezenţa de produse de degradare a proteinelor, de obicei provenite din puroi sau dintr-un exsudat, care au suferit acţiunea microbilor intestinali.

În a patra eprubetă se pun 2 ml din reactivul fosfotungstic, care precipită toate proteinele plus produsele lor de degradare, albumoze şi peptone.

Rezultate : Materiile fecale normale nu dau reacţii pozitive cu reactivii amintiţi mai sus.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	80 g
Cod	1 366	*Acidum phosphoricum* 85% D = 1,71 p. a.	10 ml
Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	100 g
Cod	2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	10 ml
Cod	8 716 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst.* p. a.	15 g
Cod	10 374	*Lithium sulfuricum* p. a.	12,50 g
Cod	12 235	*Natrium phosphowolframicum* p. a. .	12,50 g

Scanned with OKEN Scanner

d) *Cercetarea sîngelui*

Se face cu reacţia Adler ca şi la cercetarea sîngelui în urină.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	150 g
Cod	3 895	*Benzidinum* p. a.	30 g
Cod	8 859	*Hydrogenium peroxidatum* 30% p. a.	15 ml

3. EXAMENUL MICROSCOPIC

Reactivi : soluţie Lugol ; soluţie de Sudan III.

Prepararea soluţiilor

Soluţie Lugol, după formula

Iod metaloid	1 g
Iodură de sodiu	2 g
Apă distilată	30 g

Soluţie Sudan III

Sudan III	1 g
Alcool 70%	100 ml

Alcoolul 70% se prepară astfel :

Alcool 96°	100 ml
Apă distilată	40,85 ml

Tehnică. Pe cîteva lame se întinde o cantitate mică (cît un bob de grîu) de materii fecale ca atare sau, cînd sînt mai consistente, diluate într-o picătură de soluţie clorurosodică izotonă. Preparatele se presează cu o lamelă de dimensiuni mai mari (24/24). Se examinează 2—3 preparate proaspete, unul colorat cu soluţie Lugol, altul cu soluţie de Sudan III şi altul încălzit uşor la flacără. Colorarea se efectuează picurînd cu pipeta Pasteur o picătură din soluţie la marginea lamelei. Picătura este aspirată prin capilaritate sub lamelă. Soluţia de Lugol colorează în albastru amidonul, în violet-brun dextrinele, soluţia alcoolică de Sudan colorează în roşu sau portocaliu grăsimile neutre şi dizolvă cristalele de acizi graşi ; încălzirea topeşte grăsimile neutre redîndu-le la forma de picături.

Rezultate. La omul cu digestie normală, se găsesc foarte puţine resturi alimentare (fibre musculare, amidon, schelete vegetale, grăsimi) şi foarte numeroase elemente amorfe şi microbi.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a. . . .	10 ml
Cod	9 372	*Jodum metallicum* p. a.	0,3 g
Cod	12 053 +)	*Natrium jodatum* pt. a.	0,6 g
Cod	20 756	*Sudan III*	0,1 g

Scanned with OKEN Scanner

VIII. EXAMENELE CALCULILOR

1. EXAMENUL CALCULILOR URINARI

Reactivi : soluţie de acid azotic 10% ; amoniac ; soluţie de hidroxid de potasiu 32% ; soluţie diluată de acid clorhidric 12,5% ; soluţie 4% de oxalat de amoniu ; soluţie 5% de azotat de amoniu ; soluţie de molibdat de amoniu.

Prepararea soluţiilor

Soluţie molibdat de amoniu

Molibdat de amoniu	15 g
Apă bidistilată	100 ml
Acid azotic D=1,20	100 ml

Tehnică. Calculul este tăiat cu un briceag şi vom lua cu vîrful briceagului cîte puţină substanţă din miez sau din fiecare strat. Se încălzeşte pe o spatulă de metal la o flacără.

Dacă calculul arde şi nu lasă un reziduu important, încercăm reacţia roşie a murexidului. Într-o capsulă de porţelan se pune puţină substanţă pulverizată din calcul şi se dizolvă în puţin acid azotic 10%, apoi se evaporă la baie.

Rezultate. Tratînd reziduul cu amoniac, dacă apare o culoare roşie purpurică, avem de-a face cu acidul uric sau uraţi. Dacă după tratarea cu amoniac nu apare nici o coloraţie, însă culoarea roşie apare după acţiunea unei soluţii de hidrat de potasiu, iar culoarea se intensifică după încălzire devenind purpurie, calculul conţine xantină. Dacă nu dă reacţie colorată în nici unul din aceşti reactivi, dar se dizolvă în amoniac şi formează prin evaporare lentă cristale hexagonale, calculul conţine cistină.

Dacă calculul nu arde şi nu se înnegreşte prin calcinare, el nu conţine substanţe organice. Dacă se tratează cu un acid şi se face efervescenţă, înseamnă că el conţine carbonaţi. Dacă o soluţie din calcul, în acid clorhidric diluat, neutralizată cu amoniac şi apoi, tratată cu oxalat de amoniu, produce un precipitat, înseamnă că în calcul se găseşte calciu.

Dacă într-o soluţie de acid azotic 10% din calcul, se pune soluţia de azotat de amoniu şi apoi de molibdat de amoniu şi după încălzire uşoară se produce un precipitat galben, calculul conţine fosfaţi.

Dacă calculul nu arde, dar se înnegreşte, el conţine un amestec de substanţe organice şi minerale.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	100 ml
Cod	1 189 C	*Acidum nitricum* p. a. D=1,40 . . .	100 ml
Cod	2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	500 ml
Cod	3 007	*Ammonium molibdaenicum cryst.* p. a.	80 g
Cod	3 016	*Ammonium nitricum* p. a.	8 g
Cod	3 024 +)	*Ammonium oxalicum* pt. a.	6 g
Cod	9 672	*Kalium hydricum in rotulis* p. a. . .	50 g

Scanned with OKEN Scanner

2. EXAMENUL CALCULILOR BILIARI

Reactivi : alcool ; eter ; soluţie de hidroxid de sodiu 10% ; tinctură de iod 10% ; soluţie de acid clorhidric 12,5%.

Tehnică. Calculul se pisează, iar pulberea se fierbe în apă. Se centrifughează, iar peste sediment se adaugă un amestec în părţi egale de alcool-eter pentru extragerea colesterinei. Se centrifughează din nou, iar din stratul de alcool-eter se iau cîteva picături care se pun între lamă şi lamelă la microscop.

Rezultate. Se observă cristalele caracteristice de colesterol.

După turnarea a cîţiva mililitri de soluţie de hidroxid de sodiu peste sediment, amestecare şi centrifugare, în supernatant se pune în evidenţă bilirubina prin reacţia cu tinctură de iod diluată.

Peste sediment se toarnă cîteva picături de acid clorhidric. Dacă se produce efervescenţă, înseamnă că el conţine carbonaţi de calciu.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	2 ml
Cod 1 774	*Aether aethylicus anhydricus* p. a. .	300 ml
Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	250 ml
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis p. a.* . .	40 g
	Tinctura iodi	100 ml

IX. EXAMENUL LAPTELUI MATERN

1. RECOLTAREA LAPTELUI MATERN

Recoltarea se face cu o pompă specială extrăgînd trei porţiuni de aproximativ 10 ml, la începutul, la mijlocul şi la sfîrşitul unei alăptări. Probele se amestecă, iar examenele se fac pe acest amestec.

2. IDENTIFICAREA LAPTELUI UMAN

Reacţia Umikoff

Reactivi : soluţie de amoniac 10% ; lapte de vacă.

Tehnică. Într-o eprubetă se pun 2 ml de lapte de femeie şi în alta, care va servi ca martor, 2 ml de lapte de vacă. Se adaugă în fiecare 1—2 ml de soluţie de amoniac. Se pun într-o baie cu apă caldă la 60°.

Rezultate. Laptele uman se colorează în violet, cel de vacă rămîne alb, nu-şi modifică culoarea.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	50 ml

Scanned with OKEN Scanner

a) *Densitatea :* se determină cu lactodensimetrul.

Rezultate. Normal variază între 1,025 şi 1,035.

b) *Reziduul*

Reziduul este compus din materiile organice uscate şi sărurile minerale. Se determină cîntărind reziduul unei cantităţi de lapte, ţinut la etuvă la 105° pînă la greutatea constantă, 5—8 ore.

Rezultate. Normal variază între 11,2 şi 16,3 g %.

c) *Reacţia*

Reactivi : hîrtie indicator.

Rezultate. pH-ul este net alcalic.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 21 040	*Papier lackmus neutrale*	50 de benzi
	sau	
Cod 21 190	*Papier universal Indikator pH* 0—12	50 de benzi
	sau	
Cod 21 271	*Papier Indikator* pH 6—8	50 de benzi

d) *Aciditatea totală*

Reactivi : soluţie de hidroxid de sodiu N/10 ; soluţie alcoolică de fenolftaleină 1 %.

Tehnică. Într-un pahar se pun 10 ml lapte, 10 ml apă distilată şi cîteva picături din soluţia de indicator. Se titrează cu soluţia de hidroxid pînă la apariţia culorii roz persistente, agitînd puternic. Rezultatul se dă în grade Türner, după formula : nr. ml soluţie hidroxid N/10×10= grade Türner la 100 ml lapte.

Rezultate. Normal, aciditatea totală variază între 1 şi 9 grade Türner.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	25 ml
Cod 18 504	*Natrium hydricum* N/10	100 ml
Cod 20 482	*Phenolphtaleinum*	0,25 g

e) *Dozarea grăsimilor*

Reactivi : soluţie de alcool amoniacal ; eter.

Prepararea soluţiilor

Soluţie de alcool amoniacal

Se prepară din 30 ml soluţie de amoniac şi 833 ml de alcool de 90°, completînd cu apă pînă la 1 000 ml. Alcoolul de 90° se prepară amestecînd 100 ml alcool de 96° cu 7,73 apă distilată. Cu această soluţie se prepară soluţia Adam alcoolo-amoniacală-eterată, amestecînd-o în părţi egale cu eter.

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică. Într-un galactimetru Adam sau o pîlnie de separare obişnuită se pun 10 ml lapte bine omogenizat şi 32 ml din reactivul Adam. Se agită prin răsturnare de cîteva ori şi apoi se lasă în repaus jumătate de oră. Pătura apoasă se culege într-un balon de 50 ml. Se spală grăsimile cu cîţiva mililitri de apă distilată care se culege tot în balonul cotat. Soluţia va servi la dozarea lactozei.

Grăsimile se trec într-un cristalizator tarat, pîlnia se mai spală cu 5—6 ml de eter, care se trece tot în cristalizator. Se evaporă eterul la temperatura camerei şi apoi se ţine la etuvă la 100° pînă la greutate constantă. Se cîntăreşte.

Normal laptele matern conţine 4 g % grăsimi.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 770	*Aether aethylicus* pt. a.	2 000 ml
Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	1 000 ml
Cod 2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	35 g

f) *Dozarea lactozei*

Reactivi : reactiv nitromercuric Patein ; soluţie de hidroxid de sodiu 33% ; zinc în pulbere ; soluţie Fehling I şi II titrată cu lactoză (după tehnica arătată la examenul glicozuriei) ; ferocianură de potasiu soluţie 5% ; lactoză soluţie 1% ; hîrtie neutră de turnesol.

Prepararea soluţiilor

Reactiv nitromercuric

Acid azotic 40° Bé D=1,39 . . .	160 ml
Oxid roşu de mercur	220 g
Apă distilată	160 ml

Prepararea se face astfel : se adaugă oxidul roşu de mercur în acidul azotic, în porţiuni foarte mici, agitînd spre a împiedica formarea de conglomerate. Cînd soluţia este perfect omogenă se adaugă apă distilată. Se fierbe pînă la dizolvarea totală, se răceşte şi se adaugă 40 ml de soluţie de hidrat de sodiu 8,25%. Se transferă într-un balon de 1 000 ml şi se adaugă apă distilată pînă la semn.

Tehnică. Peste pătura apoasă, culeasă în balonul de 50 ml, la dozarea grăsimilor se adaugă 4 ml din reactivul Patein şi se completează pînă la semn cu apă. Se agită şi se filtrează. La filtrat se adaugă 2 g de pulbere de zinc şi se agită bine. După o oră se filtrează. Din acest filtrat se iau 25 ml, se pun într-un balon de 50 ml, se neutralizează cu soluţia de hidroxid de sodiu şi apoi se aduce la semn cu apă distilată. 1 ml din această ultimă soluţie va corespunde la 0,1 ml lapte.

Dozarea se va face cu o soluţie titrată de reactiv Fehling, punînd într-un pahar 10 ml din reactiv, adăugînd 10 ml apă distilată şi 5 ml din soluţia de ferocianură. Se încălzeşte la fierbere şi se adaugă din filtrat picătură cu picătură pînă la apariţia unei culori brune.

Calculul se face după formula :

$$\frac{\text{Titrul în miligrame lactoză}}{\text{Numărul mililitrilor întrebuinţaţi}} \times 10\,000 = \text{grame de lactoză } ‰.$$

Scanned with OKEN Scanner

Rezultate. Conţinutul în lactoză al laptelui matern variază între 6,8 şi 7,75 g %.

Dozarea lactozei se mai poate face şi cu metoda Ionescu Matiu, descrisă la dozarea glicozuriilor, titrînd soluţia de fericianură cu o soluţie 0,5% de lactoză.

Substanţe necesare, ca la dozarea glicozuriilor.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 186 +)	*Acidum nitricum* 42° Bé D=1,40 67% pt. a.	80 ml
Cod 1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	3 ml
Cod 6 030 +)	*Cuprum sulfuricum oxydatum* pt. a. .	20 g
Cod 8 779	*Hydrargyrum oxydatum rubrum* p. a.	110 g
Cod 9 641 +)	*Kalium ferro cyanatum* pt. a.	30 g
Cod 9 732 +)	*Kalium natrium tartaricum* pt. a. . .	90 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	80 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	2 g
Cod 17 340	*Zincum metallicum pulvis* p. a. . . .	250 g
Cod 21 040	*Papier lackmus neutrale*	100 de benzi

g) *Dozarea proteinelor*

Reactivi: acid sulfuric concentrat; soluţie de sulfat de cupru 10%; soluţie de permanganat de potasiu 2%; soluţie de hidroxid de sodiu 33%; soluţie de acid clorhidric N/50 iodată; soluţie de tiosulfat de sodiu N/50, preparată din soluţia N/10; iodat de potasiu în substanţă; soluţie indicator de amidon (vezi prepararea la dozarea glicemiei prin metoda Hagedorn-Jensen).

Prepararea soluţiilor

Soluţie acid clorhidric N/50 iodată:

Se prepară din 200 ml soluţie de acid clorhidric N/10, la care se adaugă 100 ml dintr-o soluţie de iodură de potasiu 4% şi apă distilată pînă la 1 000 ml, la balon cotat.

Tehnică. 1 ml de lapte este pus într-un balon Kjeldahl; se adaugă 1 ml de acid sulfuric concentrat, 0,5 ml din soluţia de sulfat de cupru, 1 ml din soluţia de permanganat de potasiu şi 2—3 perle de sticlă pentru omogenizarea fierberii. Se fierbe la flacără uşoară pînă la obţinerea unei soluţii limpezi. Se răceşte.

Se distilează fie direct în balonul Kjeldahl, fie transvazînd şi spălînd pentru a nu pierde din substanţă. Se recomandă aparatul Parnas—Wagner; distilatul se prinde sub apă, într-un balon Erlenmeyer conţinînd 5 ml din soluţia de acid clorhidric iodat N/50 şi 15—20 ml apă distilată.

Înainte de începutul distilării şi după ce conexiunile aparatului de distilat sînt făcute, se toarnă peste laptele mineralizat 3 ml din soluţia de hidroxid de sodiu 33%. Distilarea durează 15 minute la o fierbere uşoară continuă.

Scanned with OKEN Scanner

Se titrează apoi cu soluţie de tiosulfat de sodiu N/50 al cărui factor a fost dinainte stabilit cu o soluţie de iodură de sodiu N/50 în prezenţa cîtorva cristale de iodat de sodiu şi 2 picături de amidon.

În acelaşi timp pentru controlul conţinutului în amoniac al reactivilor se face o probă albă procedînd ca mai sus, dar fără a adăuga proba de lapte.

Calculul rezultatului. 1 ml soluţie N/50 de acid clorhidric iodat corespunde la 0,28 mg azot.

Din numărul de mililitri de thiosulfat N/50 corectat cu factorul stabilit, se scade numărul de mililitri întrebuinţaţi la proba albă. Această cifră se scade din 5. Restul se înmulţeşte cu 0,28. Obţinem conţinutul în miligrame în 1 ml de lapte. Înmulţit cu 6,45 şi cu 1 000 avem conţinutul în proteine la litrul de lapte.

Rezultate. Laptele uman conţine în jurul a 1,1 g proteine %.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	250 ml
Cod	3 210	*Amylum solubile* pt. a.	1 g
Cod	6 032	*Cuprum sulfuricum anhydricum* p. a.	15 g
Cod	9 695 b	*Kalium jodatum* p. a.	5 g
Cod	9 700	*Kalium jodicum* p. a.	25 g
Cod	9 769 +)	*Kalium permanganicum* pt. a. . . .	6 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	40 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	250 g
Cod	18 034	*Acidum hydrochloricum* N/10	500 ml
Cod	18 556	*Natrium thiosulfuricum* N/10	600 ml

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL al III-lea

EXAMENE BACTERIOLOGICE

Scanned with OKEN Scanner

EXAMENE BACTERIOLOGICE

I. TEHNICI GENERALE

Pag.

1. *Pregătirea materialului* 113

a) Curăţirea sticlăriei 113
b) Pregătirea pipetelor Pasteur 114
c) Confecţionarea unei pipete cu bulă 114

2. *Recoltarea şi expedierea produselor patologice* 114

a) *Sîngele. Hemocultura* 114

— Pregătirea seringilor 115
— Recoltarea şi însămînţarea sîngelui 115
— Recoltarea sîngelui pentru examene serologice 116
— Recoltarea sîngelui pentru examene parazitologice . . . 117

b) *Sputa* 117

— Recoltarea sputei 117

c) *Recoltarea exsudatelor şi transsudatelor* 117
d) *Recoltarea exsudatului faringian* 118
e) *Recoltarea exsudatelor din vezicule, pustule, ulceraţii* . . . 118
f) *Recoltarea produselor din leziunile dermului* 118
g) *Recoltarea secreţiilor şi exsudatelor din căile genitale* 118

— Recoltarea exsudatelor din ulceraţiile sifilitice şi din şancrul moale 118
— Recoltarea secreţiei uretrale 118
— Recoltarea spermei 118
— Recoltarea secreţiei vaginale 119

h) *Recoltarea lichidului cefalorahidian* (L.C.R.) 119
i) *Recoltarea scuamelor, părului şi unghiilor* 119
j) *Recoltarea materiilor fecale* 119

— Pentru examenul bacteriologic 119
— Pentru examenul parazitologic 120

k) *Recoltarea urinei. Urocultura* 120

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

3. *Prepararea coloranţilor* 120
a) Prepararea soluţiei de albastru de metilen 120
b) Prepararea soluţiei de albastru de metilen alcalin Löffler . . 121
c) Prepararea soluţiei de albastru de metilen boraxat Manson . 121
d) Prepararea soluţiei mamă de fucsină bazică 121
e) Prepararea fucsinei fenicate Ziehl 121
f) Prepararea soluţiei mame de violet de genţiana 121
g) Prepararea soluţiei apoase de violet de metil 0,2% 122
h) Prepararea soluţiei alcoolice de violet de metil 122
i) Prepararea soluţiilor Neisser 1 A şi 1 B 122
j) Prepararea soluţiei de crisoidină 122
k) Prepararea soluţiei Lugol 123
l) Prepararea soluţiei Lugol lactat (mordant) 123

4. *Tehnici uzuale de colorare* 123
Colorarea corpului bacterian 123
a) Coloraţia cu albastru de metilen 123
b) Coloraţia Gram 123
c) Coloraţia Ziehl-Neelsen 124
d) Coloraţia May-Grunwald-Giemsa 124
e) Coloraţia Fontana-Tribondeau 124
f) Coloraţia Neisser 125
g) Coloraţia Burri cu tuş de China 126
Colorarea capsulei 126
a) Metoda cu albastru de metilen Löffler veche 126
b) Metoda Burri cu tuş de China 126
c) Metoda Ziehl-Neelsen modificată 127
Colorarea sporilor 127
a) Metoda Gray, modificată 127
b) Metoda Ziehl-Neelsen modificată 127
Colorarea cililor 128
a) Metoda Casares-Gill cu impregnaţie argentică 128
b) Metoda Casares-Gill cu fucsină fenicată Ziehl 129

II. TEHNICI SPECIALE

1. *Medii de cultură* 129
a) Controlul sterilizării 129
b) Determinarea pH-ului mediilor de cultură 129
c) Prepararea mediilor de cultură uzuale 131
— Prepararea macerației de carne 131
— Bulionul simplu peptonizat 131
— Bulion cu zaharuri 131
— Bulion cu sînge, ser sau ascită 132
— Bulion lactozat pentru analiza apei 132
— Bulion cu extract de carne 132

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

— Bulion glicerinat 133
— Apa peptonată 133
— Mediul Truche lichid 133
— Mediul Truche solid 134
— Geloză simplă 2% 134
— Mediul V.F. (viţel-ficat) 135
— Geloză pentru analiza apei 135
— Agar ciocolatiu 135
— Geloză sînge 136
— Geloză ascită 136
— Geloză ser 136
— Mediul Veillon 136
— Mediul Bordet-Gengou 137
— Mediul cu carne prăjită 137
— Bilă simplă 138
— Mediul cu lapte 138
— Geloză cu miere 138
— Mediul Sabouraud 138
— Gelatină 139

2. *Medii de cultură speciale* 139

Pentru cultura stafilococului 139
— Mediul hiperclorurat Chapman lichid 139
— Mediul hiperclorurat solid 140
— Mediul hiperclorurat cu sînge 140
Pentru cultura streptococului 140
— Mediul Pike 140
Pentru cultura enterobacteriaceelor 141

a) *Soluţii conservante* 141
— Soluţia Sachs 141
— Soluţia Bangsang-Eliot 141

b) *Medii de îmbogăţire* 142
— Bulion tetrathionat Müller-Kauffmann 142
— Mediul cu selenit de sodiu 142

c) *Medii solide* 143
— Agar verde brillant K.L.J. 143
— Agar dezoxicolat citrat Leifson (D.C.A.) 143
— Mediul Drigalski 144
— Mediul cu bilă Istrate-Meitert 145
— Agar S S 146
— Agar albastru de bromthimol-lactoză (L.B.A.) 146
— Mediul Levine 147
— Mediul Wilson-Blair 147
Pentru cultura gonococului 148
— Mediul de transport Moffet-Young-Stuart 148

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

— Mediul Peitzer-Steffen 149
Pentru cultura bacilului difteric 149
— Mediul de îmbogățire O.C.S.T. 149
— Mediul Clauberg 150
— Mediul Gundel-Tietz 151
— Mediul pentru cercetarea cistinazei 152
— Mediul cu ser coagulat de bou (Löffler) 152
Pentru cultura bacilului Koch 152
— Mediul Löwenstein 152
— Mediul Dorset I 153
— Mediul Dorset II 154
— Mediul Sauton 154

3. *Reacții biochimice de identificare a germenilor* 155
a) Fermentația hidraților de carbon și alcoolilor 155
b) Testul cu amidon 156
c) Producerea de indol 156
Metoda Gnezda 156
d) Producerea de hidrogen sulfurat 156
— Testul cu gelatină cloruroferoasă 156
— Testul cu apă peptonată 157
e) Reacția roșului de metil 157
f) Testul Voges-Proskauer pentru acetilmetilcarbinol 158
g) Testul Koser pentru utilizarea citratului ca sursă de carbon . 158
h) Testul de inhibiție cu cianură de potasiu (Moeller) 159
i) Testul reducerii nitraților în nitriți 159
j) Testul ureazei (Kristensen modificat) 160
k) Testul decarboxilazei 160
l) Testul bulion glicerină-fucsină Stern 161
m) Agarul feros triplu zahăr Kligler 162
n) Mediul Gabrielli (motilitate, indol, uree M.I.U.) 162

III. **TESTĂRI IMUNOLOGICE ȘI SEROLOGICE**

1. *Reacții pentru testarea stării de alergie sau a stării de receptivitate față de bolile transmisibile* 163
a) Reacția Schick 163
b) Intradermoreacția Dick 163
c) Intradermoreacția de stingere Schultz-Charlton 164
d) Reacția la tuberculină 164
— Cutireacția von Pirquet 164
— Intradermoreacția Mantoux 164
e) Intradermoreacția Cassoni 165
f) Intradermoreacția în trichinoză 165
g) Intradermoreacția la tularină 166
h) Intradermoreacția în bruceloză 166

2. *Reacții de aglutinare* 166
a) Reacția de aglutinare cu antigenul tularemic 166

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

b) Reacţia Wright 167
c) Reacţia inelară cu antigenul brucelos 167
d) Reacţia Huddleson 168
e) Reacţia Widal calitativă 168
f) Reacţia Weil-Felix 169
g) Reacţia Kudicke-Steuer 170
h) Reacţia de aglutinare cu antigen Vi 170

3. *Reacţii de fixare a complementului* 171

a) Reacţia de fixare a complementului în rickettsioze 171
b) Reacţia de fixare a complementului în leptospiroze 174
c) Reacţia Bordet-Wassermann 174
d) Reacţia Bordet-Wassermann în lichidul cefalorahidian . . . 176
e) Reacţia Bordet-Wassermann cu antigen cardiolipinic 177
f) Reacţia Levaditi-Latapie 177

4. *Reacţii de floculare* 178

a) Reacţia de floculare Kahn 178
b) Reacţia Citochol 178
c) Reacţia de clarificare Meinicke 179

5. *Alte reacţii serologice* 180

a) Reacţia de hemaglutinoinhibare 180
b) Reacţia pentru punerea în evidenţă a antistreptolizinelor A.S.L.O. 181

IV. DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIC

1. *Diagnosticul infecţiilor produse de cocii Gram pozitivi* 182

a) Infecţiile produse de stafilococ 182
b) Diagnosticul infecţiilor cu streptococ 184
c) Diagnosticul infecţiilor pneumococice 186
d) Diagnosticul infecţiilor produse de meningococ 187
e) Diagnosticul infecţiilor cu gonococ 188

2. *Diagnosticul de laborator al enterobacteriaceelor* 189

a) Diagnosticul şi clasificarea enterobacteriaceelor 189
b) Diagnosticul bacteriologic al salmonelozelor 192
c) Diagnosticul de laborator al infecţiilor cu bacili dizenterici . 194
d) Diagnosticul infecţiilor cu *Escherichia coli* 196
e) Diagnosticul infecţiilor cu germeni din grupul *Proteus* . . . 197
f) Diagnosticul de laborator al toxiinfecţiilor alimentare . . . 198

3. *Infecţiile cu alţi germeni* 199

a) Diagnosticul infecţiilor cu *Klebsiella* 199
b) Diagnosticul infecţiilor produse cu vibrionul holeric 199
c) Diagnosticul infecţiilor cu *Pseudomonas* 202
d) Diagnosticul bacteriologic al infecţiilor cu bacili difterici . . 202

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

e) Diagnosticul listeriozelor 205
f) Diagnosticul brucelozei 205
g) Diagnosticul de laborator al tularemiei 206
h) Diagnosticul infecţiilor cu *Haemofillus* 207
— *Haemophillus influenzae* 207
— *Haemophillus Ducrey* 208
i) Diagnosticul infecţiilor produse cu germenii din genul *Bordetella* 208
j) Diagnosticul bacteriologic al infecţiei cărbunoase 209
k) Diagnosticul de laborator al toxiinfecţiei tetanice 210
l) Diagnosticul de laborator al infecţiei botulinice 211
m) Diagnosticul de laborator al gangrenelor gazoase 212
n) Diagnosticul infecţiei tuberculoase 213
o) Diagnosticul infecţiei cu *micobacterium leprae* 216
p) Diagnosticul de laborator al infecţiilor cu spirochete 216
— *Borrelia recurrentis* 216
— *Treponema pallidum* 217
— *Leptospira* 217
r) Diagnosticul infecţiilor cu rickettsia 219

4. *Determinarea sensibilităţii germenilor la antibiotice (antibiograma)* 220

a) Metoda cantitativă pe mediile lichide 220
b) Metoda difuzimetrică pentru germeni aerobi 220
— Metoda rondelelor 220
— Metoda pulberilor 221
c) Efectuarea antibiogramei în condiţii de anaerobioză 222
d) Determinarea sensibilităţii bacilului Koch la antibiotice . . 223

Scanned with OKEN Scanner

I. TEHNICI GENERALE

1. PREGĂTIREA MATERIALULUI

a) *Curăţirea sticlăriei*

Pentru curăţirea sticlăriei sînt necesare următoarele materiale :

— carbonat de sodiu, săpun de rufe, detergenţi (alba, perlan, cetazolin, decatiol), amestec oxidant sulfocromic, apă distilată, oală de 5—10 l, capsulă de porţelan 6—10 l, perii de diferite mărimi, mandrine de sîrmă şi cîrpe fără scame.

Sticlăria pentru a fi sterilizată necesită :

— vată ordinară, tifon, hîrtie de împachetat şi sfoară subţire.

Pregătirea amestecului oxidant

Reactivi : kaliu bicromic 100 g ; acid sulfuric 200 ml ; apă distilată 2 000 ml.

Tehnică. Într-un balon de pirex cu fund plat se depun cele 100 g kaliu bicromic, peste care se adaugă 500 ml apă distilată. Se încălzeşte uşor la flacăra unui bec, pe sita de asbest, pînă la dizolvarea completă a bicromatului. După răcire se adaugă 200 ml acid sulfuric, picătură cu picătură. De reţinut : acidul sulfuric trebuie turnat încet, cu mari precauţii spre a evita supraîncălzirea soluţiei şi accidentele care ar urma. După ce s-a adăugat întreaga cantitate de acid sulfuric, se completează volumul soluţiei cu restul de 1 500 ml apă distilată. Această soluţie se păstrează în cristalizoarele şi cilindrii în care se vor introduce pipetele şi lamele infectate. Amestecul sulfocromic se poate face şi mai concentrat, în proporţie de 1 : 4 pînă la 1 : 2 acid faţă de apă. Amestecul sulfocromic se oxidează în timp, fiind necesară înlocuirea lui de fiecare dată, cînd îşi schimbă culoarea.

Sticlăria se va ţine 24 de ore în amestecul sulfocromic, după care trebuie trecută sub curent de apă de robinet, apoi se va limpezi cu apă distilată.

După limpezire, sticlăria se va aşeza pe stative pentru a se usca.

Eprubetele se vor aşeza cu gura în jos în coşuri de sîrmă. Uscarea se va face într-o etuvă încălzită la 100°.

Scanned with OKEN Scanner

Pentru uscarea rapidă a pipetelor se utilizează procedeul cu solvenţi organici. Pentru aceasta se aspiră în pipetă puţin alcool, iar după clătirea cu alcool se aspiră eter sulfuric. Se trece apoi un curent de aer prin pipetă.

După uscare, pipetele gradate se împachetează în hîrtie, în prealabil fiind prevăzute cu dop de vată protector la capătul prin care se aspiră. Urmează apoi sterilizarea la pupinel, 1 oră la 180°.

Reactivi necesari (pentru 3 luni)

1 515 A	*Acidum sulfuricum* D=1,84 purum	5 000—10 000 g
1 770	*Aether aethylicum* p. a.	6 kg
9 541 +)	*Kalium bicromicum* chimic pur	1 600 g
	Alcohol aethylicus 96°	12 kg

b) *Pregătirea pipetelor Pasteur*

Din tuburi de sticlă cu diametrul de 3—6 mm, se taie bucăţi de 30—40 cm. Acestea se spală şi se usucă, se înfundă la ambele capete cu vată şi se pun la sterilizare. Un asemenea tub sterilizat se ia cu ambele mîini şi se ţine deasupra unei flăcări puternice, încălzindu-se la roşu la mijlocul tubului pe o zonă de 2 cm.

În timpul încălzirii, tubul se va roti în jurul axului său pentru a se încălzi omogen suprafaţa care trebuie topită. Coatele se vor sprijini pe masa de lucru. În momentul în care tubul se înroşeşte, îl retragem din flacără şi tragem uniform, uşor, de ambele extremităţi pînă obţinem efilura convenabilă. Secţionăm şi apoi închidem tuburile capilare la flacără.

c) *Confecţionarea unei pipete cu bulă*

Se încălzeşte pipeta Pasteur pînă la înroşire, la nivelul la care dorim să confecţionăm bula, rotind tubul continuu.

Se retrage tubul din flacără şi se suflă pînă se obţine o bulă convenabilă.

2. RECOLTAREA ŞI EXPEDIEREA PRODUSELOR PATOLOGICE

Stabilirea diagnosticului etiologic se poate face în două moduri :

direct, prin punerea în evidenţă a germenilor în produsele examinate ;

indirect, prin cercetarea modificărilor provocate de germenul infecţios în organism, ca prezenţa anticorpilor, starea de alergie.

Pentru a se putea efectua în condiţiuni bune un examen bacteriologic, este necesar în primul rînd să se efectueze o recoltă corectă.

În acest scop se vor respecta următoarele indicaţii :

a) *Sîngele. Hemocultura*

Hemocultura constă în recoltarea şi însămînţarea sîngelui pe medii de cultură în condiţii de perfectă sterilitate.

Scanned with OKEN Scanner

Momentul optim în care trebuie să se recolteze sîngele este pe înserate, înaintea apariţiei frisonului şi a ascensiunii termice, cînd germenii se găsesc în sînge în număr mai mare.

Sîngele se recoltează înainte de administrarea substanţelor antibiotice sau chimioterapice.

În cazul în care bolnavul se găseşte sub tratamentul cu antibiotice, se vor adăuga mediilor de cultură substanţe care să neutralizeze acţiunea acestor medicamente, ca : penicilinaza sau acidul paraaminobenzoic.

Şansa de a izola un germen dintr-o hemocultură este cu atît mai mare, cu cît cantitatea de sînge recoltat este mai mare şi cu cît gradul de diluţie al sîngelui faţă de mediu este mai mare. De obicei se recoltează minimum 10 ml de sînge într-un balon în care se găsesc 150—200 ml mediu de cultură.

Pentru executarea hemoculturii sînt necesare următoarele materiale : seringi sterile de 10—20 ml, ace sterile, garou, eter, tinctură de iod, lampă de spirt şi flacoane cu medii de cultură potrivite germenului pe care îl căutăm.

Pregătirea seringilor. Seringi pirex de 10—20 ml se curăţă, se usucă şi se sterilizează în pupinel, montate în tuburi de sticlă cu diametrul suficient de mare ca să permită introducerea seringii. În fundul tubului se pune un strat de vată şi o eprubetă mică care va proteja acul şi va sprijini seringa.

Se astupă apoi tubul cu un dop de vată care în acelaşi timp va imobiliza şi seringa. În lipsa tuburilor speciale de sticlă, seringile pirex vor fi împachetate în hîrtie şi sterilizate.

Dacă nu dispunem de seringi pirex, se pot utiliza seringi ITM, care vor fi sterilizate la autoclavă sau prin fierbere.

Pentru a se evita posibilitatea infectării materialului în timpul manipulării, se mai poate folosi un ac montat la balonul cu mediu de cultură. Pentru aceasta, se trece prin dopul de vată al balonului un tub de sticlă de 8—10 mm. La capătul exterior al acestui tub, se racordează un tub de cauciuc, lung de 20—30 cm. La capătul liber al acestui tub se montează prin intermediul unui ambou un ac de seringă pentru puncţii venoase. Acul se va proteja, introducîndu-se într-o eprubetă mică. Tubul de cauciuc, eprubeta cu acul şi dopul se vor împacheta în hîrtie şi se vor steriliza la autoclavă.

Mediile de cultură cele mai des utilizate sînt :

— Bulion glucozat 1%—2% .	200 ml în balonaşe
— Bulion ser	200 ml în balonaşe
— Bulion bilă	10 ml în eprubete
— Bulion glucozat 1—2% .	10 ml în eprubete
— Bulion glucozat 1—2% .	10 ml cu strat de ulei de parafină steril, în eprubete
— Bulion sînge	10 ml bulion şi 1—2 ml sînge, în eprubete

Recoltarea şi însămînţarea sîngelui. În cazul hemoculturii venoase, sîngele se recoltează în special din venele de la plica cotului, iar în cazul arterioculturii, din artera femurală.

Scanned with OKEN Scanner

Recoltarea se va face după tehnica cunoscută, dîndu-se o atenţie deosebită dezinfectării pielii cu tinctură de iod sau alcool 70%, după ce a fost degresată cu eter sulfuric. Însămînţarea se face rapid, flambîndu-se gîtul balonului atît înainte cît şi după introducerea sîngelui. Se agită uşor balonul spre a omogeniza sîngele cu mediul de cultură, fără ca lichidul să atingă dopul de vată.

Baloanele se vor ţine în termostat la 37°.

Pentru incubarea în condiţiuni de anaerobioză, se vor utiliza medii cu un strat de parafină. Acestea se vor regenera înainte de utilizare, fierbîndu-se 15 minute şi apoi răcindu-se. Se mai pot utiliza medii cu substanţe reducătoare sau medii uzuale, introducînd baloanele în aparate de tip Zeissler, în care se face vid. Se incubează apoi acest aparat la 37°C. În lipsa aparatului Zeissler, se pot incuba introducîndu-se balonul sau tuburile de cercetat, în exsicatoare, în care se realizează o atmosferă de 10% CO_2. În cazuri extreme, în lipsa balonului sau tubului special de hemocultură pentru însămînţarea imediată, se poate recolta sînge pe citrat de sodiu steril sau pe heparină şi apoi se va expedia laboratorului pentru însămînţare.

Hemoculturile se ţin la termostat 24 de ore pînă la 30 de zile, controlîndu-se zilnic vizual şi prin treceri pe medii de diferenţiere şi de identificare.

Reactivi necesari (pentru 100 de hemoculturi)

Cod 1 770	*Aether aethylicus* p. a.	100 ml
	Tinctura iodi	100 ml
	Alcohol aethylicus 96°	100 ml
	Bulion glucozat 2%	20 kg

Recoltarea sîngelui pentru examene serologice. Pentru examene serologice, se recoltează 5—10 ml sînge venos. Recoltarea se va face în mod steril, în eprubete sterile.

După recoltare, sîngele se lasă la temperatura camerei pentru coagulare şi retractare, apoi se ţine la frigider la + 4° pentru separarea cheagului de ser. Se centrifughează, se decantează serul şi se păstrează la frigider pînă în momentul punerii lui în lucru.

Se va evita hemolizarea hematiilor, prin spălarea seringilor cu o soluţie clorurosodică izotonică sterilă.

În timpul verii, spre a se evita alterarea sîngelui, dacă laboratorul este la o distanţă mai mare, se va trimite numai serul.

Transportul la laborator se va face evitîndu-se răsturnarea eprubetelor de sînge, în acest caz dopurile absorbind serul. Transportul la distanţă se va face utilizînd eprubete sterile cu dop de plută sau de cauciuc.

Reactivi necesari (pentru 100 de probe de sînge)

Alcohol aethylicus 96°	200 ml

Scanned with OKEN Scanner

Recoltarea sîngelui pentru examene parazitologice. În acest scop se recoltează după tehnica cunoscută, pe lame de sticlă degresate şi uscate, frotiuri şi picături groase de sînge.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Alcohol aethylicus 96° . . . . . 200 ml

b) *Sputa*

Recoltarea sputei. Sputa se recoltează dimineaţa, pe nemîncate, cînd bolnavii de obicei o elimină în cantitate mai mare. Colectarea se face în cutii Petri sterile, pahare de sticlă sau scuipători speciale, sterilizate. Pentru examene bacteriologice, parazitologice şi citologice sputa trebuie să fie proaspătă, examenul făcîndu-se cît mai repede după recoltare. Pentru căutarea bacilului Koch, cantitatea de spută trebuie să fie de 10—30 ml. Pentru aceste examene e necesar să se colecteze secreţia bronhopulmonară. În cazul efectuării unui examen bacterioscopic, se va putea examina sputa recoltată din mai multe zile.

În cazul însămînţării pe medii de cultură sau al inoculării la animale este recomandabil ca sputa să fie cît mai proaspătă.

În cazul în care bolnavii nu pot expectora, căutarea bacilului Koch se face din frotiu faringian sau laringian, ori din spălătură bronşică sau gastrică. La copiii mici care înghit sputa, căutarea bacilului Koch, se face şi din fecale. Frotiul faringian se recoltează cu ajutorul tamponului special pentru exsudat faringian. Acesta este format dintr-un beţişor de lemn sau dintr-o sîrmă, care străbate dopul de vată al unei eprubete, iar la capătul intern are un tampon de vată. Recoltarea se face umectîndu-se tamponul cu ser fiziologic şi atingînd cu acesta lueta şi vălul palatin, pentru declanşarea reflexului de tuse, apoi sputa eliminată se recoltează pe tamponul de vată.

Frotiul laringian se execută numai de medicul specialist sub controlul laringoscopului.

Lichidul de spălătură gastrică se recoltează cu sonda Einhorn, iar la copii cu sonda Nélaton, aspirîndu-se conţinutul gastric după introducerea a 200 ml apă distilată bicarbonatată 2%, călduţă.

Recoltarea se va face dimineaţa pe nemîncate cu sonde care au fost spălate la jet continuu de apă, timp de 24 de ore, apoi sterilizate o oră la fierbere.

Lichidul de spălătură bronşică se poate recolta numai de medicul ftiziolog.

c) *Recoltarea exsudatelor şi transsudatelor*

Pentru efectuarea examenului citobacteriologic al lichidelor colectate în organe sau cavităţi, se practică puncţia evacuatoare. Puncţiile se vor face în condiţii riguroase de asepsie, iar lichidul aspirat se trece într-o eprubetă sterilă şi se trimite la laborator.

Scanned with OKEN Scanner

Exsudatele conjunctivale, nazale, faringiene sau din plăgile accidentale sau operatoare se vor recolta cu ajutorul unui tampon de exsudat faringian umectat cu soluţie clorurosodică izotonică sterilă. Se mai pot recolta prin aspirare cu pipeta Pasteur sau cu ansa. În cazul plăgilor supurate, înainte se va îndepărta stratul de puroi care acoperă plaga, apoi se va recolta secreţia purulentă de pe suprafaţă.

d) *Recoltarea exsudatului faringian*

Se va efectua dimineaţa pe nemîncate şi înainte de a se lua medicamente, gargare, badijonări sau instilaţii nazale. La nevoie se va putea recolta şi la 2—3 ore după masă sau după aplicarea tratamentului. Dacă recoltarea se face pentru decelarea bacilului difteric, tamponul se va umezi cu glicerină 15%. Timpul de la recoltare şi pînă la însămînţare trebuie să fie cît mai scurt şi să nu depăşească 5—6 ore.

e) *Recoltarea exsudatelor din vezicule, pustule, ulceraţii*

Aceste recoltări se vor face cu ansa sau cu pipeta Pasteur.

f) *Recoltarea produselor din leziunile dermului*

Se va face prin puncţie şi aspiraţie, spălîndu-se apoi seringa cu bulion steril şi însămînţîndu-se lichidul de spălătură. Se mai poate practica şi excizia unui fragment din derm.

g) *Recoltarea secreţiilor şi exsudatelor din căile genitale*

Recoltarea exsudatelor din ulceraţiile sifilitice şi din şancrul moale. Se face întîi o toaletă a ulceraţiei, îndepărtîndu-se crustele sau curăţindu-se puroiul care o acoperă, cu un tampon îmbibat în ser fiziologic steril. Se raclează apoi ulceraţia cu ajutorul ansei, fără a produce sîngerarea plăgii. Se aşteaptă pînă cînd ulceraţia se acoperă cu exsudat. Acesta se aspiră cu pipeta Pasteur sau se recoltează cu ansa sau cu colţul unei lamele de sticlă. Din produsul recoltat se efectuează frotiuri şi preparate pentru examenul ultramicroscopic. Dacă examenul nu se poate face imediat, se aspiră exsudatul într-un capilar, apoi se închide capilarul la ambele extremităţi. Se poate păstra astfel la termostat 1—2 săptămîni fără ca spirocheta să moară.

Recoltarea secreţiei uretrale. Se recomandă ca recoltarea secreţiei uretrale să se facă dimineaţa, înainte ca bolnavul să urineze. De asemenea se recomandă să nu se practice bolnavului instilaţii sau spălături uretrale sau să i se administreze antibiotice sau antiseptice înainte de examen. Se face toaleta meatului urinar cu ser fiziologic steril. Se recoltează apoi cu ansa sau cu o pipetă Pasteur secreţia uretrală care se scurge spontan sau după o uşoară apăsare pe uretră. Dacă bolnavul nu are secreţie în cantitate suficientă, se poate provoca apariţia acesteia cu instilaţie cu nitrat de argint 1%, sau prin administrarea de bere înainte cu 24 de ore. Din secreţia recoltată, se fac frotiuri şi însămînţări pe medii de cultură.

Recoltarea spermei. Sperma se recoltează într-un prezervativ, apoi se trece într-o eprubetă sterilă şi se trimite imediat la laborator. Din

Scanned with OKEN Scanner

lichidul spermatic, se fac preparate între lamă şi lamelă, pentru observarea mişcărilor spermatozoizilor, coloraţii vitale, frotiuri fixate şi colorate, numărători de elemente şi însămînţări pe medii de cultură.

Recoltarea secreţiei vaginale. Secreţia vaginală se recoltează înainte de a se administra spălături, instilaţii, tratamente locale sau generale cu antiseptice, antibiotice sau sulfamide. Bolnava se aşază în poziţie ginecologică, se practică toaleta externă a vulvei, apoi se recoltează secreţia vaginală cu ajutorul unei sonde, a unei spatule sau a ansei. Pentru decelarea gonococului se recomandă şi recoltarea secreţiei de la colul uterin. Pentru examenul citohormonal, recoltarea se va face din fundul de sac posterior cu ajutorul unei spatule de lemn. Din secreţia recoltată, se fac frotiuri colorate pentru studiul florei microbiene sau al citologiei vaginale. De asemenea se vor face preparate între lamă şi lamelă în cazul în care se caută *Trichomonas vaginalis* ; în acest caz, secreţia se va dilua cu ser normal uman sau cu ser fiziologic.

h) *Recoltarea lichidului cefalorahidian (L.C.R.)*

L.C.R. se recoltează pentru examene bacteriologice, serologice, citologice şi chimice.

L.C.R. se recoltează prin puncţie lombară, suboccipitală sau ventriculară, după tehnicile cunoscute, apoi se transvazează în eprubete sterile, în condiţii de perfectă asepsie. Lichidul se va trimite imediat după recoltare la laborator, iar în meningite este recomandabil ca însămînţarea să se facă, dacă este posibil, chiar la patul bolnavului.

Cantităţile de L.C.R. necesare diferă după natura examenului. Astfel, pentru examene citologice sînt necesari 2—3 ml, pentru examenul bacteriologic 5—10 ml, pentru examenul serologic 8—10 ml, iar pentru examenul chimic 8—10 ml.

i) *Recoltarea scuamelor, părului şi unghiilor*

Părul sau scuamele de pe piele şi unghiile se recoltează în vederea efectuării unui examen parazitologic. Firele de păr se scot cu o pensă şi se depun într-o cutie Petri sterilă. Scuamele se raclează cu o spatulă şi se depun pe o sticlă de ceasornic. Unghiile se recoltează prin tăiere. Se expediază apoi la laborator pentru examen parazitologic.

j) *Recoltarea materiilor fecale*

Pentru examenul bacteriologic este necesară recoltarea unui volum aproximativ egal cu al unei nuci. Recoltarea se va face după administrarea unui purgativ salin (sulfat de magneziu 30 g), după ce bolnavul a urinat, pentru a se evita amestecarea fecalelor cu urina. Se vor recolta fragmente din diferite părţi ale scaunului, căutîndu-se porţiuni cu aspect mucos, gleros sau sanguinolent. Fragmentele recoltate se introduc în colectoare speciale de sticlă sau material plastic, care se pot închide bine. Este interzisă recoltarea în cutii de chibrituri, cutii de carton sau în hîrtie. În colectoare se vor introduce de la caz la caz, soluţii conservante după cum se va arăta în partea specială. După recoltare, fecalele vor fi trimise cît mai repede la laborator.

Scanned with OKEN Scanner

Pentru examenul parazitologic, recoltarea se va face după administrarea unui purgativ salin. Se va evita administrarea unui purgativ uleios şi amestecarea fecalelor cu urina. Cantitatea necesară trebuie să fie cît mai mare, iar examenul trebuie efectuat cît mai repede după recoltare.

Pentru protozoare, dacă împrejurările permit, se recomandă ca bolnavul să fie adus la laborator, pentru a defeca pe loc, în camera termostat, într-un cristalizor steril şi cald. Pentru decelarea oxiurilor, se va recolta produsul obţinut prin raclarea mucoasei anale. Un singur examen negativ nu are valoare, examenele repetîndu-se de 2—3 ori în interval de 8 zile.

Pentru examenul digestiei, se va recolta întreg scaunul obţinut după administrarea regimului special.

Pentru decelarea hemoragiilor oculte, este necesară o cantitate echivalentă cu volumul unei alune, care se va recolta după administrarea regimului special.

k) *Recoltarea urinii. Urocultura*

Urina pentru urocultură se va recolta în condiţii de sterilitate, pentru a se evita suprainfectarea probei. Se va evita pe cît posibil sondarea pentru a nu produce infectarea bolnavilor. Urina se recoltează după toaleta organelor genitale externe cu apă şi săpun, apoi cu ser fiziologic steril. Primul jet de urină se aruncă, apoi se recoltează 10—20 ml într-o eprubetă sterilă, flambată la scoaterea şi punerea dopului.

Pentru bacilul Koch se va proceda în acelaşi mod, efectuîndu-se uroculturi repetate.

Pentru examenul chimic se va trimite, în cazul examenului total, cantitatea de urină colectată din 24 de ore.

Pentru conservare se va adăuga un cristal de timol sau cîţiva mililitri de cloroform.

Pentru examenul sumar, se va trimite 100 ml urină, din prima micţiune de dimineaţă.

3. PREPARAREA COLORANŢILOR

Coloranţii utilizaţi în tehnica bacteriologică sînt soluţii apoase sau soluţii hidroalcoolice fenicate, ale unor coloranţi sintetici din grupa anilinei.

Pentru o mai bună conservare se prepară soluţii mame, care se păstrează la întuneric, în flacoane bine închise.

a) *Prepararea soluţiei de albastru de metilen*

Se dizolvă într-un flacon cu dop de sticlă, 10 g de albastru de metilen în 100 ml alcool. Se menţine flaconul la termostat 7 zile, agitîndu-se zilnic, apoi se filtrează prin hîrtie de filtru. Se obţine, astfel, soluţia mamă de albastru de metilen. Pentru prepararea soluţiei de lucru, se vor lua din soluţia mamă 10 ml adăugîndu-se apoi 2 ml acid fenic şi 90 ml apă distilată.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	10 g
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	5 g
	Alcohol aethylicus 96°	50 ml

b) *Prepararea soluției de albastru de metilen alcalin Löffler*

La 30 ml soluție de albastru de metilen mamă se adaugă 1 ml hidroxid de potasiu 1% și 100 ml apă distilată.

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod 20 120	*Methylen blau*	15 g
	Kalium hydroxyd soluție 1%	5 ml

c) *Prepararea soluției de albastru de metilen boraxat Manson*

Se dizolvă 2 g albastru de metilen și 5 g borax în 100 ml apă fierbinte. După răcire se filtrează.

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod 11 803	*Natrium boracicum ustum* p. a. . . .	25 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	10 g

d) *Prepararea soluției mame de fucsină bazică*

Se triturează în mojar 10 g fucsină bazică, peste care se adaugă 100 ml alcool 96°. Se ține în sticlă bine astupată, la termostat, timp de 7 zile, agitîndu-se în fiecare zi. Se filtrează.

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	10 g
	Alcohol aethylicus 96°	100 ml

e) *Prepararea fucsinei fenicate Ziehl*

Din soluția mamă de fucsină bazică se iau 10 ml peste care se adaugă 5 g fenol cristalizat și 90 ml apă distilată.

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	25 g
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	5 g

f) *Prepararea soluției mame de violet de gențiana*

Se mojarează 10 g violet de gențiana, peste care se adaugă 100 ml alcool 96°. Se ține la termostat o săptămînă, agitîndu-se zilnic. Se filtrează. Din soluția mamă se pregătește soluția de lucru, adăugîndu-se la 10 ml soluție mamă, 2 g fenol cristalizat și 90 ml apă.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	10 g
Cod 19 714	*Gentiana violet*	5 g
	Alcohol aethylicus 96°	50 ml

g) *Prepararea soluției apoase de violet de metil 0,2 %*

Se mojarează 1 g violet de metil, peste care se adaugă 500 ml apă, se agită și apoi se filtrează. Această cantitate este suficientă pentru 100 de colorații.

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod 19 714	*Gentiana violet*	1 g

h) *Prepararea soluției alcoolice de violet de metil*

Reactivi : violet de metil 1 g ; alcool 96% 5 ml ; apă distilată 100 ml.

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod 19 714	*Gentiana violet*	1 g
	Alcohol aethylicus 96°	5 ml

i) *Prepararea soluțiilor Neisser*

Soluția Neisser 1 A

Albastru de metilen	1 g
Alcool absolut	20 ml
Acid acetic glacial	50 ml
Apă distilată	950 ml

Soluția Neisser 1 B

Cristal violet	1 g
Alcohol 96°	10 ml
Apă distilată	300 ml

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	7,5 g
Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	30 g
Cod 19 714	*Gentiana violet*	1 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	0,15 g

j) *Prepararea soluției de crisoidină*

Crisoidină	1 g
Apă distilată fiartă	300 g

Se filtrează.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod 19 145 *Chrisoidinum* . . . . . 1 g

k) *Prepararea soluției Lugol*

Iod	1 g
Iodură de potasiu	2 g
Apă distilată	300 g

Întîi se dizolvă iodura de potasiu în 20 ml apă distilată, apoi se dizolvă iodul și se completează cu apă distilată pînă la 300 ml.

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod 9 372 *Jodum metallicum* p. a. . . . . 1 g
Cod 9 700 *Kalium jodicum* p. a. . . . . 2 g

l) *Prepararea soluției Lugol lactat (mordant)*

Soluție Lugol	100 ml
Acid lactic	1 ml

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod 1 023 *Acidum lacticum* D=1,21 *purum* . . 1 ml
Cod 10 384 *Lugolum solutio* p. a. . . . . 100 ml

4. TEHNICI UZUALE DE COLORARE

COLORAREA CORPULUI BACTERIAN

a) *Coloratia cu albastru de metilen*

Reactivi : soluție albastru de metilen.

Tehnică. Se fixează frotiul la flacără, se acoperă preparatul cu soluție albastru de metilen și se ține colorantul pe lamă, 1—2 minute. Se varsă colorantul, se spală cu apă de robinet, se usucă și apoi se examinează preparatul cu imersie.

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod 20 120 *Methylen blau* . . . . . 0,15 g

b) *Coloratia Gram*

Reactivi : violet de gențiana fenicat ; soluție Lugol ; alcool, acetonă (alcool 90 ml + acetonă 10 ml) ; fucsină 1 : 10 (fucsină fenicată 1 ml + apă 9 ml).

Tehnică. Se fixează preparatul la flacără, se colorează cu violet de gențiana fenicat, se filtrează 1 minut. Se aruncă colorantul de pe lamă și fără să se spele se adaugă soluția Lugol, care se ține pe lamă 2 minute.

Scanned with OKEN Scanner

Se varsă soluţia Lugol şi se decolorează cu alcool acetonă cîteva secunde, agitînd lama, pînă nu se mai scurge culoare violetă. Se spală cu apă de robinet şi se recolorează cu fuxină diluată 1 : 10, timp de 1 minut. Practic, se acoperă lama cu apă şi se adaugă o picătură de fucsină Ziehl. Se spală şi se usucă. Se examinează preparatul cu imersie. Germenii Gram-pozitivi sînt coloraţi în violet, iar cei Gram-negativi în roz.

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod 38	*Acetonum* pt. a.	50	ml
Cod 10 384	*Lugolum solutio* p. a.	500	ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5	ml
Cod 19 714	*Gentiana violet*	5	g
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	0,50	g
	Alcohol aethylicus 96°	500	ml

c) *Coloraţia Ziehl-Neelsen*

Reactivi : fucsină fenicată Ziehl ; acid azotic 1/3 sau acid sulfuric 1/4.

Se mai poate utiliza pentru decolorare soluţia de alcool clorhidric (alcool etilic 96° şi acid clorhidric 3%).

— Soluţie albastru de metilen.

Tehnică. Frotiul fixat la flacără se acoperă cu soluţie de fucsină fenicată Ziehl. Se încălzeşte preparatul pînă la degajare de vapori, fără ca soluţia colorantă să fiarbă. Coloraţia la cald trebuie să dureze 3—5 minute. Se spală preparatul cu apă. Se decolorează prin acoperirea lamei cu acid azotic 1 : 3 sau acid sulfuric 1 : 4, timp de 2—3 minute. Se spală cu apă curentă. Se decolorează cu alcool 96%, timp de 5 minute. Se spală cu apă curentă. Se recolorează cu soluţie fenicată de albastru de metilen 1 minut. Se spală, se usucă şi se examinează cu imersie.

Observaţii. Decolorarea cu acid şi cu alcool se poate face într-un singur timp, utilizîndu-se soluţia de alcool clorhidric 3%, timp de 5—7 minute. Recolorarea se poate face şi cu soluţie de acid picric 1% sau cu soluţie verde malahit 5%.

Rezultate. Bacilii acido- şi alcoolorezistenţi apar coloraţi în roşu, iar fondul apare colorat în albastru, respectiv galben sau verde.

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	35	g
Cod 1 193	*Acidum nitricum fumans* D=1,52 p. a.	150	ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5	ml
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	5	g
Cod 20 120	*Methylen blau*	5	g

d) *Coloraţia May-Grünwald-Giemsa* (vezi capitolul IV Hematologie).

e) *Coloraţia Fontana-Tribondeau*

Reactivi : soluţia Ruge (formol 40% 20 ml, acid acetic glacial 1 ml, apă 100 ml) ; soluţie tanin 5% cu fenol 10% ; soluţie amoniacală de nitrat de argint 5% ; alcool absolut.

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică. Frotiul uscat, nu se fixează la flacără, ci se acoperă cu soluţia Ruge de 3 ori cîte 30 de secunde. Se varsă soluţia Ruge şi se acoperă lama cu alcool absolut care se lasă 3 minute, apoi se varsă. Se acoperă lama cu soluţia de taninfenol pentru mordansare, încălzindu-se uşor pînă la emitere de vapori, timp de 30 de secunde (se va evita fierberea). Se spală cu apă de robinet, apoi cu apă distilată. Se acoperă preparatul cu soluţie nitrat de argint proaspăt preparată, încălzindu-se timp de 1 minut sau pînă cînd preparatul capătă o culoare brună netă. Se spală cu apă distilată, se usucă şi se examinează cu imersie.

Rezultate. Spirochetele apar colorate în brun cafeniu, pe fondul galben al preparatului.

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	5 ml
Cod	581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	5 g
Cod	843	*Acidum gallotannicum anhydricum purum*	25 g
Cod	2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	100 ml
Cod	2 883	*Ammonia liquida* p. a.	50 ml
Cod	3 431	*Argentum nitricum* p. a.	25 g
Cod	3 732	*Balsamum canadense neutrale purum*	50 g
Cod	7 807	*Formaldehydum* 40% *purum*	100 ml
Cod	13 327	*Oleum cedri purum*	5 g

f) *Coloraţia Neisser*

Reactivi : soluţie Neisser 1 A ; soluţie Neisser 1 B ; soluţie Lugol lactat ; soluţie crizoidină.

Tehnică. Se prepară extemporaneu un amestec de 2 părţi soluţie Neisser 1 A şi 1 parte soluţie Neisser 1 B. Preparatul fixat la flacără se colorează cu acest amestec 2 minute. Se aruncă colorantul şi se mordansează cu soluţie Lugol lactat 1%, 1 minut. Se spală cu apă de robinet. Se recolorează cu soluţie crizoidină, 2 secunde. Se spală, se usucă şi se examinează cu imersie.

Rezultate. Corpii microbieni apar coloraţi în galben-brun, iar corpusculii Babeş-Ernst apar coloraţi în albastru.

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	7,5 g
Cod	2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	30 ml
Cod	9 372	*Jodum metallicum* p. a.	1 g
Cod	9 695 +)	*Kalium jodatum* p. a.	2 g
Cod	19 145	*Crysoidinum*	1 g
Cod	19 714	*Gentiana violet*	1 g
Cod	20 120	*Methylen blau*	0,15 g

Scanned with OKEN Scanner

g) *Coloraţia Burri cu tuş de China*

Reactivi : tuş de China.

Tehnică. Pe o lamă curată se pune o picătură de tuş de China. Se amestecă cu o picătură din serozitatea sau suspensia microbiană de examinat şi se întinde pe lamă în frotiu subţire. Se usucă, se fixează la flacără şi se examinează la microscop cu imersie. După fixarea la flacără, preparatul de tuş poate fi colorat cu un colorant obişnuit.

Rezultate. Fondul preparatului este negru, iar corpii microbieni sau spirochetele apar strălucitoare.

Reactivi necesari (pentru 100 de coloraţii)

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 19 090	*China Tusche*	25 ml

COLORAREA CAPSULEI

a) *Metoda cu albastru de metilen Löffler veche*

Reactivi : soluţie albastru de metilen Löffler veche.

Tehnică. Frotiul fixat la flacără se acoperă cu soluţia albastru de metilen Löffler veche, timp de 1½—2 minute. Se spală, se usucă şi se examinează cu imersie.

Rezultate. Corpul microbian se va colora în albastru, iar capsula se va colora metacromatic în roz.

Reactivi necesari (pentru 100 de coloraţii)

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	15 g
	Kalium hydroxyd soluţie 1%	5 ml

b) *Metoda Burri cu tuş de China*

Reactivi : tuş de China ; soluţie de fucsină diluată.

Tehnică. Se face un preparat cu tuş de China, după tehnica arătată şi se lasă să se usuce. Se recolorează cu soluţie fucsină diluată 1 : 10 timp de 5 minute.

Rezultate. Pe fondul negru, germenii apar coloraţi în roşu, cu o zonă incoloră în jur. Această zonă corespunde capsulei microbiene.

Reactivi necesari (pentru 100 de coloraţii)

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a.	125 g
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 19 090	*China Tusche*	25 ml
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	0,50 g
	Alcohol aethylicus 96°	5 ml

Scanned with OKEN Scanner

c) *Metoda Ziehl-Neelsen, modificată*

Reactivi: fucsină Ziehl; mordant Muir (soluție saturată de sublimat 2 ml, soluție saturată alaun de potasiu 5 ml, soluție tanin 20%, 2 ml); alcohol metilic; soluție albastru de metilen.

Tehnică. Frotiul se usucă și se fixează la flacără. Se colorează cu fucsină la cald 2 minute. Spălare cu apă de robinet. Se tratează cu mordant Muir 1 minut. Se spală cu apă curentă. Se decolorează cu alcool metilic, pînă nu se mai scurge alcool colorat în roz. Spălare cu apă curentă. Se recolorează cu albastru de metilen 1 minut. Se spală, se usucă și se examinează cu imersie.

Rezultate. Capsula apare colorată în albastru, iar germenii în roșu.

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* pt. a. . .	35 ml
Cod 2 419 +)	*Alcohol methylicus* pt. a.	500 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 g
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	5 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	5 g
	Alcohol aethylicus 96°	100 ml
	Reactiv Muir	500 ml

COLORAREA SPORILOR

a) *Metoda Gray, modificată*

Reactivi: soluție 3% verde malahit; soluție fucsină diluată.

Tehnică. Frotiurile se usucă și se fixează la flacără. Se colorează la cald cu soluție apoasă de verde malahit 3%, 3 minute. Se spală și se acoperă cu fucsină diluată 1 : 10, 1—2 minute. Se spală, se usucă și se examinează cu imersie.

Rezultate. Sporii apar colorați în verde-albăstrui iar corpul bacterian, în violaceu.

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	1,25 g
Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	5 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 g
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	0,50 g
Cod 20 046	*Malachit grün*	15 g

b) *Metoda Ziehl-Neelsen, modificată*

Reactivi: fucsină Ziehl; acid sulfuric 5%; soluție albastru de metilen.

Tehnică. Frotiurile se usucă și se fixează la flacără. Se colorează cu fucsină Ziehl, la cald, 10 minute. După răcire se repetă încă o dată co-

Scanned with OKEN Scanner

loraţia cu fucsină la cald. Se aruncă colorantul şi se spală cu apă din robinet. Decolorare cu acid sulfuric 5%. Spălare cu apă. Recolorare cu albastru de metilen 1 minut. Se spală, se usucă şi se examinează cu imersie.

Rezultate. Sporul apare colorat în roşu, iar bacteria în albastru.

Reactivi necesari (pentru 100 de coloraţii)

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	35 g
Cod 1 515 A	*Acidum sulfuricum* D=1,84 purum .	100 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 g
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	5 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	5 g
	Alcohol aethylicus 96°	100 ml

COLORAREA CILILOR

a) *Metoda Casares-Gill cu impregnaţie argentică*

Reactivi : soluţie Fontana ; mordant Casares-Gill ; balsam de Canada.

Prepararea soluţiilor

Mordant

Soluţia I se triturează în mojar ; tanin 10 g, clorură de aluminium hidratată 18 g cu alcool 70%, 30 ml.

Soluţia a II-a se triturează în mojar : clorură de zinc 10 g, fucsină bazică 3 g şi apă distilată 10 ml. Se adaugă picătură cu picătură soluţia a II-a peste soluţia I, agitînd mereu. Se păstrează la întuneric. În momentul întrebuinţării se diluează 10 ml mordant cu 40 ml apă distilată.

Soluţia Fontana

La soluţia de argint nitric 2% g, în apă distilată se adaugă amoniac soluţie 1/3 pînă cînd soluţia mai păstrează o opalescenţă.

Balsam de Canada.

Tehnică. Frotiul se usucă la aer, nu se fixează la flacără. Se acoperă cu mordant Casares-Gill filtrat, timp de 2 minute. Se spală cu apă de robinet, apoi cu apă distilată. Se impregnează cu soluţie Fontana, timp de 30 de secunde. Se spală şi se montează cu balsam de Canada.

Rezultate. Cilii apar coloraţi în negru.

Reactivi necesari (pentru 100 de impregnări)

Cod 843	*Acidum gallotannicum anhydricum purum*	10 g
Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	30 ml
Cod 2 633	*Aluminium chloratum cryst.* pss. . .	18 g
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	10 g
Cod 3 732	*Balsamum canadense neutrale purum* .	50 g
Cod 17 280	*Zincum chloratum anhydricum* p. a. .	10 g
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	3 g

Scanned with OKEN Scanner

b) *Metoda Casares-Gill cu fucsină fenicată Ziehl*

Reactivi : mordant ; fucsină fenicată.

Tehnică. Frotiurile uscate şi nefixate se tratează cu mordant Casares-Gill un minut, la cald. Spălare cu apă de robinet şi colorare cu fuxină fenicată timp de 1 minut. Spălare, uscare şi citire cu imersie.

Rezultate : cilii apar colorați în roşu.

Reactivi necesari (pentru 100 de colorații)

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	35 g
Cod 843	*Acidum gallotannicum anhydricum purum*	18 g
Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	80 ml
Cod 2 633	*Aluminium chloratum cryst.* pss. . .	18 g
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 g
Cod 17 280	*Zincum chloratum anhydricum* p. a. .	18 g
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	13 g

II. TEHNICI SPECIALE

1. MEDII DE CULTURĂ

Un mediu de cultură trebuie să fie nutritiv, să fie steril şi să aibă pH între 7—8.

a) *Controlul sterilizării*

Controlul sterilizării se face cu ajutorul martorilor chimici, utilizîndu-se substanţele chimice cu punct de topire cunoscut. Aceste substanţe sînt introduse în tuburi de sticlă închise la capete care se vor pune în autoclavă, împreună cu materialele de sterilizat. Topirea acestor indicatori ne arată realizarea temperaturii dorite.

Martori pentru 100° : *benzonaphtolum purum* 100 g cu safraninum T. 0,01 g.

Martori pentru 120° : *acidum benzoicum* 100 g cu brilliantgrün 0,01 g.

Reactivi necesari (pentru 100 de sterilizări)

Cod 495	*Acidum benzoicum* p. a.	500 g
Cod 3 975	*Benzonaphtolum beta purum*	500 g
Cod 20 046	*Malachit grün*	0,05 g
Cod 20 706	*Safraninum T*	0,05 g

b) *Determinarea pH-ului mediilor de cultură*

Determinarea pH-ului mediilor de cultură se face cu ajutorul colorimetrului Hellige, cu ajutorul comparatorului Walpole sau la fotocolorimetru.

Scanned with OKEN Scanner

Determinarea cu ajutorul colorimetrului Hellige se va efectua conform instrucţiunilor ce însoţesc aparatul.

În lipsa acestui aparat, se poate confecţiona un comparator Walpole şi o scară de indicatori Michaelis în eprubete de sticlă neutră, uniform calibrate.

Prepararea indicatorilor Michaelis

Tub nr.	Alfa Dinitrofenol			Gama Dinitrofenol			Para Nitrofenol			Meta Nitrofenol		
	ml indic. 1/10	ml carb. N/10	pH	ml indic. 1 : 10	ml carb. N/10	pH	ml indic. 1 : 10	ml carb. N/10	pH	ml indic. 1 : 10	ml carb. N/10	pH
1	6,7	0,3	4,4	6,6	0,4	5,4	4,05	2,95	7	5,2	1,8	8,4
2	5,7	1,3	4,2	5,5	1,5	5,2	3,0	4,0	6,8	4,2	2,8	8,2
3	4,6	2,4	4,0	4,5	2,5	5,0	2,08	4,92	6,6	3,0	4,0	8,0
4	3,4	3,6	3,8	3,4	3,6	4,8	1,4	6,6	6,4	2,3	4,7	7,8
5	2,5	4,5	3,6	2,4	4,6	4,6	0,94	6,05	6,2	1,5	5,5	7,6
6	1,74	5,26	3,4	1,65	5,35	4,4	0,63	6,37	6	1,0	6,0	7,4
7	1,20	5,80	3,2	1,10	5,9	4,2	0,40	6,60	5,8	0,66	6,34	7,2
8	0,78	6,22	3,0	0,74	6,29	4,0	0,25	6,75	5,6	0,43	6,57	7,0
9	0,51	6,49	2,8	—	—	—	0,16	6,84	5,4	0,27	6,73	6,8

Prepararea indicatorilor se face după schema de mai jos :

Indicatorul utilizat	Modul de preparare a soluţiei	Domeniul de viraj
α - Dinitrofenol	0,1 g + 200 ml apă distilată	2,8 — 4,4
γ - Dinitrofenol	0,1 g + 400 ml apă distilată	4 — 5,4
Para-Nitrofenol	0,1 g + 100 ml apă distilată	5,4 — 7
Meta-Nitrofenol	0,3 g + 100 ml apă distilată	6,8 — 8,4

Prepararea etaloanelor se face conform indicaţiilor din tabelul de mai sus, utilizîndu-se cantităţi crescînde de carbonat de sodiu N/10 şi cantităţi descrescînde din soluţiile de indicatori preparate conform indicaţiilor date şi diluate 1 : 10.

Tehnică. Se iau 3 eprubete identice cu cele utilizate la confecţionarea scării Michaelis. În eprubeta nr. 1 se pun 2 ml mediu de cercetat + 4 ml ser fiziologic + 1 ml soluţie indicator. În eprubeta nr. 2 se pun 2 ml mediu de cercetat şi 5 ml ser fiziologic. În eprubeta nr. 3, care se introduce în locul din spatele eprubetei nr. 1, se pun 7 ml ser fiziologic. Eprubetele se introduc în locurile corespunzătoare din comparatorul Walpole. În locul nr. 4, din spatele eprubetei nr. 2, se va introduce cîte un etalon din scara Michaelis. Se vor încerca diferite etaloane, pînă cînd se va obţine o egalitate de culoare cu a mediului de cercetat. pH-ul mediului va fi egal cu al tubului etalon identic colorat. Ajustarea pH-ului se face cu soluţie natrium hidroxid 10% şi acid clorhidric 10%. Se tatonează cantitatea necesară pentru ajustarea a 2 ml mediu, calcu-

Scanned with OKEN Scanner

lîndu-se apoi cantitatea de acid sau bază, care trebuie adăugată mediului La ajustarea pH-ului mediului de cultură, se va ţine seama că, la sterilizarea prin autoclavare, pH-ul scade cu 0,2. Este necesar deci, ca înainte de sterilizare, mediul să aibă un pH cu 0,2 mai mare decît valoarea dorită.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	500 ml
Cod	6 856	2-4 α-*dinitrophenol* p. a.	0,20 g
Cod	6 858	2-5 γ-*dinitrophenol* p. a.	0,20 g
Cod	11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	50 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. .	100 g
Cod	12 679	*Nitrophenolum meta* p. a.	1 g
Cod	12 683	*Nitrophenolum para* p. a.	0,40 g

c) *Prepararea mediilor de cultură uzuale*

Prepararea macerației de carne. Se utilizează carne macră de vită, curăţită de grăsime, tendoane şi aponevroze. Se trece prin maşina de tocat carne şi se cîntăreşte. La 1000 g carne tocată, se adaugă 2 l apă de robinet. Se ţine la macerat la + 4°, timp de 24 de ore. Se fierbe 30 de minute, amestecînd din cînd în cînd. Se filtrează printr-o pînză şi se stoarce. Se completează cu apă la volumul iniţial. Dacă nu se utilizează imediat, se va steriliza la 120°, timp de 30 de minute.

În loc de macerația de carne se poate utiliza şi macerația de organe ca : ficat, inimă, macerație de placentă, macerație de carne de peşte, care se vor prepara ca şi macerația de carne.

Bulionul simplu peptonizat. La 1 000 g macerație carne se adaugă cantitatea de 10 g peptonă comercială şi 5 g clorură de sodiu. Se încălzeşte pînă la fierbere. Se adaugă 10 ml hidroxid de sodiu 10%. Se ajustează pH-ul la 8. Se sterilizează la autoclav la 120° timp de 20 de minute. Se filtrează şi se repartizează în recipiente corespunzătoare, apoi se resterilizează la 110°, 30 de minute.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod	11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	50 g
Cod	13 743	*Peptonum siccum ex carne purum* .	15 g

Bulion cu zaharuri (glucoză-lactoză)

Bulion simplu peptonizat	1 000 g
Zahăr (glucoză, lactoză)	20 g

Zahărul se sterilizează separat la 105°, timp de 30 de minute, apoi se adaugă în mod steril la mediu.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de hemoculturi)

Cod 8 089	*Glucose* D. p. a.	400 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	100 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. .	20 g
Cod 13 743	*Peptonum siccum ex carne purum* .	200 g

Bulion cu sînge, ser sau ascită. La 100 ml bulion simplu peptonizat, se adaugă steril sînge defibrinat de iepure, oaie sau om, în proporţie de 5%. Înainte de utilizare, flacoanele sau eprubetele vor fi ţinute la termostat la 37°, timp de 24 de ore, pentru controlul sterilităţii, aruncîndu-se recipientele care se tulbură.

Bulion lactozat pentru analiza apei

Macerat de carne	1 000 ml
Peptonă	5 g
Lactoză	10 g
pH final 7—7,2	

Se pune la fiert peptona în maceratul de carne, timp de 30 de minute. În acest timp se fierbe lactoza în puţină apă distilată. După ce bulionul a fiert, se adaugă lactoza. Se ajustează pH-ul şi se filtrează prin hîrtie de filtru. Se repartizează în eprubete mari, în care se pun tubuşoare pentru captarea gazului. Se sterilizează jumătate de oră, la 105—110°.

Reactivi necesari (pentru 100 de analize apă)

Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. .	25 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	125 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	250 g

Bulion cu extract de carne

Extract de carne Liebig sau Lablenco .	3—5 g
Peptonă Witte sau bacto	10 g
Natriu chlorat	5 g
Apă de robinet	1 000 ml

Se ajustează pH-ul la 7,6, se filtrează şi se sterilizează 30 de minute la 110°.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 7 775	*Fleisch extrakt Lablenco purum* . .	20 g
	sau	
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	20 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	10 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. .	2 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	20 g

Scanned with OKEN Scanner

Bulion glicerinat

Bulion simplu peptonat	1 000 ml
Glicerină neutră	40 g
pH 7,4	

Se sterilizează 30 de minute, la 120°.

Reactivi necesari (pentru 10 litri mediu)

Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	400 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	50 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	100 g

Apa peptonată

Peptonă Witte	10 g
Natriu chlorat	5 g
Apă distilată	1 000 ml
pH final 7,4—7,6	

Preparare : se încălzesc ingredientele în cantitatea corespunzătoare de apă, pînă la dizolvarea completă. Se ajustează pH-ul la 7,9, adăugînd 2—3 ml soluție natrium hidroxid 10%. Se autoclavează pentru precipitare 30 de minute, la 120°. Se filtrează prin hîrtie de filtru, se repartizează și se resterilizează 30 de minute la 115°

Reactivi necesari (pentru 10 kg mediu)

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	50 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	10 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	10 g

Mediul Truche lichid

Se utilizează pentru cultivarea pneumococilor

Peptonă Chapoteaut sau Witte	40 g
Natriu chlorat	5 g
Glucoză	2 g
Apă distilată	1 000 ml

Tehnică. Se dizolvă la cald ingredientele de mai sus. Se ajustează pH-ul la 8, adăugîndu-se aproximativ 10 ml hidroxid de sodiu 10%. Autoclavare 30 de minute, la 120°, pentru precipitare. Se filtrează. Se adaugă steril 2 g glucoză. Se repartizează și se resterilizează 30 de minute, la 110°.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod	8 089	*Glucose* D. p. a.	3 g
Cod	11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	50 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	1,5 g
Cod	13 753	*Peptonum Chapoteaux purum*	50 g
		sau	
Cod	13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	50 g

Mediul Truche solid

La 1 000 ml mediu Truche lichid, se adaugă 20 g geloză fibre îmbibată în prealabil în apă, timp de 15 minute şi se stoarce. Se ajustează pH-ul la 7,6, se sterilizează 30 de minute, la 110°; se filtrează la cald prin vată în autoclavă, se repartizează şi se resterilizează 20 de minute, la 110°.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod	2 289	*Agar-agar pulvis*	40 g
Cod	8 089	*Glucose* D. p. a.	4 g
Cod	11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	10 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	2 g
Cod	13 753	*Peptonum Chapoteaux purum*	80 g

Geloză simplă 2%

Macerat de carne	1 000 ml
Peptonă	10 g
Clorură de sodiu	5 g
Geloză fibre	20 g
pH final 7,4—7,6	

Tehnică. Se dizolvă peptona şi sarea, în macerat, la cald. Geloza se leagă într-un tifon şi se lasă 10—15 minute într-un vas cu apă apoi se stoarce şi se adaugă la bulion. Se ţine la foc pînă la fierbere, agitîndu-se cu o baghetă. Se readuce la volumul iniţial. Se alcalinizează cu hidroxid de sodiu 10% (aproximativ 10 ml) pînă la pH 8. Se ţine la autoclavă 30 de minute, la 120°, pentru precipitare. Se corectează pH-ul. Se filtrează la cald prin vată sau prin hîrtie de filtru. Dacă mediul este tulbure, se clarifică în modul următor: se bate un albuş de ou în 50 ml apă şi se adaugă la 1 000 ml mediu de cultură încălzit la 60°, apoi se filtrează. Se repartizează în eprubete sau baloane şi se sterilizează 30 de minute, la 115°.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod	2 287	*Agar-agar fillis*	40 g
Cod	7 775	*Fleisch extrakt Lablenco purum*	10 g
		sau	
Cod	7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	10 g
Cod	11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	50 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	1,5 g
Cod	13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	20 g

Scanned with OKEN Scanner

Mediul V.F. (viţel-ficat)

Carne de viţel	1 000 g
Ficat de viţel	500 g
Stomac de porc	600 g
Apă	5 000 ml
Acid clorhidric 37% pur	50 ml
Azotat de potasiu	5 g
Glucoză	15 g

pH final 7,6—7,8

Tehnică. Carnea de viţel curăţită de tendoane, grăsimi şi aponevroze, se toacă împreună cu ficatul şi stomacul de porc. Se amestecă într-un vas cu 5 000 ml apă încălzită la 50°. Se adaugă acidul clorhidric. Vasul se păstrează 24 de ore, la 50°. Se fierbe amestecul 30 de minute, la 100°, şi se filtrează prin sac de pînză. Se adaugă azotatul de potasiu şi se ajustează pH-ul la 7,8. Se fierbe din nou la 100°, timp de 15 minute, se filtrează pe hîrtie de filtru, se repartizează în baloane şi tuburi şi se sterilizează 30 de minute la 105°. Glucozarea mediului se face în momentul utilizării.

Reactivi necesari (pentru 10 litri mediu)

Cod 931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	100 ml
Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	6—10 g
Cod 9 736 +)	*Kalium nitricum* p. a.	10 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	10 g

Geloză pentru analiza apei

Macerat de carne	1 000 ml
Peptonă	5 g
Geloză fibre	15 g

pH final 7—7,2

Tehnica de preparare este aceeaşi ca la geloza simplă.

Reactivi necesari (pentru 10 litri mediu)

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	150 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	10 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	50 g

Agar ciocolatiu

La 100 g geloză 1—2% topită, se adaugă 5—10 ml sînge defibrinat de berbec. Încălzim mediul la 72—76° pînă ia o culoare brună ciocolatie. Se repartizează steril în cutii Petri.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod	2 287	*Agar-agar fillis*	45 g
Cod	7 775	*Fleisch extrakt Lablenco purum* . . .	6 g
		sau	
Cod	7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	6 g
Cod	11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	7,5 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	1,5 g
Cod	13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	15 g

Geloză sînge

Se topeşte prin încălzire geloză 3% şi se lasă să se răcească la 50—55°. Se adaugă apoi în mod steril sînge defibrinat de berbec, iepure sau om în proporţie de 10—30%.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)
vezi mediul agar ciocolatiu

Geloză ascită

Se topeşte geloza 3%, se răceşte la 50—55° şi se adaugă în mod steril o parte lichid de ascită, care a fost în prealabil controlat ca sterilitate, la 2 părţi geloză. Se face controlul sterilităţii, 24 de ore, la 37°.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)
vezi mediul agar ciocolatiu

Geloză ser

La geloza 3% topită şi răcită la 50—55°, se adaugă în mod steril o parte de ser normal (de om, iepure, cal sau oaie) la 2 părţi geloză. Se controlează sterilitatea 24 de ore, la 37°.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)
vezi mediul agar ciocolatiu

Mediul Veillon

Macerat de carne	1 000 g
Peptonă	10 g
Clorură de sodiu	5 g
Agar-agar fibre	10 g
Glucoză	10 g
pH final 7,2—7,4	

Tehnică. Se prepară geloza conform indicaţiilor date. Se adaugă apoi glucoza. Se repartizează în eprubete 180/18 cîte 15 ml mediu sau în tuburi Weinberg 170/8.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod	2 287	*Agar-agar fillis*	20 g
Cod	8 089	*Glucose* D. p. a.	20 g

Scanned with OKEN Scanner

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	7,5 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	2 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	20 g

Mediul Bordet-Gengou

Cartofi săpunari	100 g	50 ml
Apă glicerinată 4%	200 ml	
Soluție apoasă 5‰ clorură de sodiu . .	150 ml	
Geloză fibre	8 g	
Sînge defibrinat de berbec în proporție de 1/3		

Tehnică. La 100 g cartofi curățați și tăiați mărunt se adaugă 200 ml apă glicerinată 4%. Se autoclavează 20 de minute la 120°. Se filtrează prin vată pînă ce lichidul rămîne clar. La 50 ml din filtratul obținut se adaugă 150 ml soluție apoasă de clorură de sodiu 5‰ și 8 g geloză fibre. Se încălzește pînă la dizolvare completă. Se repartizează în tuburi de 200/20, cîte 10—12 ml. Se sterilizează din nou 15 minute la 115°. După ce se scoate de la autoclavă cînd temperatura scade la 50°, se adaugă în mod steril sînge defibrinat de berbec în proporție de 1 : 3, față de cantitatea de mediu. Se înclină tuburile și se lasă să se răcească. Se controlează sterilitatea tuburilor ținîndu-se 24 de ore, la 37°.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	80 g
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	100 ml
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	10 g

Mediul cu carne prăjită

Tehnică. Se prăjește la cuptor o cantitate de carne tocată. Se repartizează cîte 2—3 g carne prăjită în eprubete de 180/18. Se adaugă în fiecare eprubetă cîte 15—20 ml bulion glucozat 2‰, pH 7,8. Se adaugă în fiecare eprubetă 2—3 ml ulei de vaselină. Se sterilizează 30 de minute la 110°. pH final=7,6.

Observații. În loc de carne prăjită, se poate adăuga carne rasol, bucăți de organ sau bucăți de ou, care se fierb în macerat, timp de 30 de minute.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 7 775	*Fleisch extrakt Lablenco purum* . . .	15 g
	sau	
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a. . . .	15 g
Cod 8 089	*Glucose* D. p. a.	6 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	15 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. .	3 g
Cod 13 340	*Oleum paraffini* D=0,890 *purum* . .	300 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	30 g

Scanned with OKEN Scanner

Bila simplă

Bila din veziculele biliare de vită se recoltează într-un balon şi se sterilizează la 100°, 30 de minute. Se păstrează 1—2 luni la temperatura camerei pentru sedimentare. Se filtrează prin hîrtie de filtru, iar filtratul se sterilizează 30 de minute, la 110°.

Filtratul se poate usca la 105° şi apoi se păstrează ca pulbere.

Mediul cu lapte

Laptele fiert se smîntîneşte prin centrifugare la 1 500 de ture, timp de 30 de minute. Se filtrează prin hîrtie de filtru, se repartizează în tuburi şi se sterilizează 60 minute la 100°. Se controlează sterilitatea 24 de ore la 37°.

Laptele turnesolat se obţine din mediul de mai sus, la care se adaugă soluţie apoasă turnesol 10%, pînă cînd se obţine o culoare uşor violetă.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 20 002 *Lackmus pur* . . . . . 100 g

Geloză miere

(pentru cultivarea ciupercilor)

Geloză fibre	15 g
Peptonă	10 g
Miere	100 g
Apă distilată	1 000 ml

Tehnică. Se dizolvă peptona în apă distilată caldă, se adaugă agarul, se încălzeşte pînă la dizolvare şi se filtrează prin vată. Se adaugă mierea, se repartizează în tuburi şi în baloane şi se sterilizează 30 de minute, la 110°.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 2 287 *Agar-agar fillis* . . . . . 22,5 g
Cod 13 766 *Peptonum Witte pro bacto purum* . . 15 g

Mediul Sabouraud

Geloză	15 g
Peptonă	10 g
Glucoză p. a.	40 g
Apă distilată	1 000 ml

Tehnică. Se dizolvă geloza şi peptona în 1 000 ml apă distilată, la cald, agitîndu-se mereu. Se adaugă glucoza, apoi se filtrează la cald. Se repartizează şi se sterilizează 30 de minute, la 110°.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 2 289	*Agar-agar pulvis*	30 g
Cod 8 089	*Glucose* D. p. a.	80 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	20 g

Gelatina

Bulion simplu	1 000 ml
Gelatină	200 g

Tehnică. Se încălzește bulionul simplu peptonizat pînă la fierbere și se adaugă 200 g gelatină. Se ia vasul de pe foc și se amestecă pînă la topirea gelatinei. Se ajustează pH-ul la 7,8 apoi se clarifică cu un albuș de ou bătut în 50 ml apă distilată. Se sterilizează la autoclav 105°, timp de 20 de minute, apoi se filtrează la cald prin hîrtie de filtru. Se repartizează cîte 10 ml în eprubete 160/16. Se sterilizează la 110° timp de 30 de minute. Se răcește.

Observații. În timpul verii se utilizează 250 g gelatină.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 8 038	*Gelatina* p. a.	250 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	5 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	1 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	10 g

2. MEDII DE CULTURĂ SPECIALE

PENTRU CULTURA STAFILOCOCULUI

Mediul hiperclorurat Chapman lichid

Extract de carne	4 g
Proteoză peptonă	10 g
Natriu chlorat	150 g
Lactoză	15 g
Agar pulbere	1 g
Apă distilată	1 000 ml

Tehnică. Se dizolvă la cald toate ingredientele afară de lactoză. Se ajustează pH-ul=7,6. Se autoclavează 20 de minute, la 120°, apoi se filtrează prin vată la cald. Se adaugă lactoza, se repartizează în tuburi cîte 10 ml și se resterilizează 20 de minute, la 110°.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 2 289	*Agar-agar pulvis*	1 g
Cod 7 775	*Fleisch extrakt Lablenco purum*	4 g
	sau	
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	4 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	150 g
Cod 13 761	*Peptonum proteose bacto Difco* nr. 2	10 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	15 g

Scanned with OKEN Scanner

Mediul hiperclorurat solid

Extract de carne	4 g
Proteoză peptonă	9 g
Clorură de sodiu	7,5 g
Manită	10 g
Agar-agar fibre	20 g
Roşu fenol	0,025 g
Apă distilată	1 000 ml

Tehnică. Se dizolvă la cald toate ingredientele cu excepţia indicatorului şi lactozei. Se ajustează pH-ul 7,6, apoi se sterilizează 30 de minute la o atmosferă. Se filtrează prin vată şi se adaugă lactoza şi roşu fenol. Se repartizează în baloane şi se sterilizează 20 de minute la 110°. Se repartizează apoi în cutii Petri. Mediul are culoare roz-gălbuie.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	30 g
Cod 7 775	*Fleisch extrakt Lablenco purum*	6 g
	sau	
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	6 g
Cod 10 845	*Mannit purum*	15 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	110 g
Cod 13 761	*Peptonum proteose bacto Difco* nr. 2	14 g
Cod 20 490	*Phenol rot*	0,05 g

Mediul hiperclorurat cu sînge

Geloză 3%	100 ml
Natrium chloratum	8 g
Sînge defibrinat	10 ml

Tehnică. Se topeşte geloza, se adaugă sarea, apoi se răceşte geloza la 45° şi se adaugă steril sîngele defibrinat de berbec sau iepure.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	60 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	160 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	2 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	20 g

PENTRU CULTURA STREPTOCOCULUI

Mediul Pike (de îmbogăţire)

Extract de carne	4 g
Peptonă Witte	10 g
Natriu chlorat	5 g
Glucoză	0,2 g
Apă distilată	1 000 ml
pH final 7,4	

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică. La 100 ml mediu se adaugă, în mod steril, 5 ml sînge defibrinat de cal, 5 ml soluție cristal violet, 1 : 25 000 și 7,5 ml azotit de sodiu 1 : 1 000. Se repartizează steril cîte 2 ml. Se conservă 2—3 zile la frigider.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 8 089	*Glucose* D. p. a.	1 g
Cod 7 775	*Fleisch extrakt Lablenco purum*	4 g
	sau	
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	4 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	5 g
Cod 12 130	*Natrium nitrosum cryst.* p. a. . . .	1 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	10 g
Cod 19 714	*Gentiana violet*	1 g

PENTRU CULTURA ENTEROBACTERIACEELOR

a) *Soluții conservante*

Soluția Sachs

Glicerină	30 ml
Clorură de sodiu	0,42 g
Fosfat bipotasic anhidru	0,1 g
Apă distilată	70 ml

Se adaugă soluție indicator roșu fenol 0,1% în alcool, pînă la culoarea roz. Se sterilizează 15 minute la 120°. pH=8. Dacă se schimbă culoarea se aruncă.

Reactivi necesari (pentru 100 de coproculturi)

Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	300 g
Cod 9 783	*Kalium phosphoricum bibasicum Sörensen* p. a.	3,1 g
Cod 9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	0,1 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	4,2 g
Cod 20 490	*Phenol rot*	0,2 g

Soluția Bangsang-Eliot

Citrat de sodiu	1 g
Dezoxicolat de sodiu	0,50 g
Clorură de sodiu	0,90 g
Fosfat de sodiu M/15	0,30 ml
Apă distilată	100 ml

Se neutralizează în prezența turnesolului. Se adaugă 0,2 ml hidroxid de sodiu 10% și soluție roșu fenol 0,1%, pînă cînd mediul capătă o culoare trandafirie. Se sterilizează 15 minute la 120°.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de coproculturi)

Cod 11 760	*Natrium biphosphoricum Sörensen* p. a.	1 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	10 g
Cod 11 916	*Natrium desoxycholicum* p. a.	5 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	1 g
Cod 20 002	*Lackmus pur*	1 g
Cod 20 490	*Phenol rot*	0,2 g

b) *Medii de îmbogățire*

Bulion tetrathionat Müller-Kaufmann

Tehnică. La 90 ml bulion steril, se adaugă :

Carbonat de calciu	5 g
(pulbere sterilizată la 180°, 60 de minute)	
Thiosulfat de sodiu soluție 50% sterilă .	10 ml
Soluție iodoiodurată	2 ml

La 100 ml din amestecul de mai sus se adaugă :

Soluție verde brillant 10% steril . . .	1 ml
Bilă de bou sterilă	5 ml

Soluția iodoiodurată are următoarea compoziție :

Iod metalic	20 g
Iodură de potasiu	25 g
Apă distilată sterilă	100 ml

Se dizolvă întîi iodura de potasiu în 50 ml apă distilată sterilă și apoi se dizolvă iodul, pe urmă se completează cu apă distilată sterilă pînă la 100 ml.

Mediul se repartizează în mod steril cîte 10 ml în eprubete 160/16, agitîndu-se continuu pentru a nu se depune carbonatul de calciu.

Reactivi necesari (pentru 100 de coproculturi)

Cod 5 023	*Calcium carbonicum* p. a.	50 g
Cod 9 372	*Jodum metallicum* p. a.	2 g
Cod 9 700	*Kalium jodicum* p. a.	2,5 g
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	50 g
Cod 20 046	*Malachit grün*	1 g

Mediu cu selenit de sodiu

Soluția nr. 1 :	Selenit de sodiu	2 g
	Apă distilată	100 ml
Soluția nr. 2 :	Lactoză	2 g
	Peptonă	2,5 g
	Fosfat monosodic	2,5 g
	Fosfat disodic	2,5 g
	Apă distilată	400 ml

Scanned with OKEN Scanner

Soluţia nr. 1 trebuie să aibe un aspect limpede, incolor. Soluţia nr. 2 poate să fie uşor precipitată. Se lasă 24 de ore, la temperatura camerii, pentru depunerea precipitatului, apoi se decantează soluţia nr. 2 peste soluţia nr. 1. Se sterilizează 30 de minute, la 100°. Se repartizează cîte 10 ml în eprubete de 160/16, steril. Se păstrează la întuneric.

Reactivi necesari (pentru 100 de coproculturi)

Cod 11 760	*Natrium phosphoricum Sörensen* p. a.	5 g
Cod 11 762	*Natrium biseleniosum* p. a.	4 g
Cod 12 217 A	*Natrium phosphoricum bibasicum* . . p. a.	5 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	5 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	4 g

c) *Medii solide*

Agar verde brillant Kristensen, Lester, Jurgens (K.L.J.)

Extract carne	0,50 g
Peptonă bacto	1 g
Natriu chlorat	0,50 g
Soluţie roşu fenol 0,1%	4 ml
Agar-agar fibre	2,6 ml
Apă distilată	100 ml

pH 7,2—7,4

Prepararea soluţiei roşu de fenol

Roşu fenol	0,2 g
Natrium hidroxid N/10	8 ml
Apă distilată	92 ml

Se sterilizează 15 minute, la 120°. Se adaugă înainte de răcire 0,2 ml soluţie verde-brillant 0,5% şi lactoză 1,5 g solubilizată în puţină apă.

După Kaufmann, se poate utiliza extractul de placentă în locul extractului de carne.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	52 g
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	10 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	10 g
Cod 13 749	*Peptonum bacto siccum* p. a.	20 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	15 g
Cod 20 490	*Phenol rot*	0,1 g
	Malachit grün soluţie 5%	4 ml

Agar dezoxicolat citrat Leifson (D.C.A.)

Infuzie de bou sau de porc	100 ml
Peptonă (bacto, proteoză)	1 g
Lactoză	1 g

Scanned with OKEN Scanner

Citrat de sodiu (11 molecule de apă)	2,50 g
Dezoxicolat de sodiu	0,50 g
Citrat feroamoniacal în lamele	0,20 g
Roşu neutru 1%	0,02 ml
Agar	2 g

Tehnică. Carnea tocată diluată cu 3 părţi de apă, se macerează 1 oră, agitîndu-se. La fiecare 100 g carne se adaugă 1 ml acid clorhidric 10%. Se fierbe 1 minut, se filtrează prin pînză, apoi prin hîrtie de filtru şi se completează la volumul iniţial. Se adaugă peptona, se ajustează pH=7,5, se fierbe 2—3 minute, se adaugă agarul, se agită şi se lasă 15 minute după care se autoclavează 30 de minute cu vaporii deschişi. După autoclavare, la mediul încă cald se adaugă lactoza şi citratul. Înainte de întrebuinţare se topeşte şi cînd mediul are 80—90°, se adaugă citratul feroamoniacal dizolvat în prealabil în apă sterilă, precum şi dezoxicolatul. Se ajustează pH=7,4 în prezenţa roşului de fenol ca indicator şi se adaugă roşu neutru, din soluţia apoasă 1%. Nu se mai resterilizează.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	40 g
Cod 2 964	*Ammonium ferricitricum viride purum*	4 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	50 g
Cod 11 916	*Natrium desoxycolicum* p. a.	10 g
Cod 13 761	*Peptonum proteose bacto Difco* nr. 2	20 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	20 g
Cod 20 217	*Neutral rot*	1 g

Mediul Drigalski

Macerație de carne	1 000 ml
Peptonă	10 g
Clorură de sodiu	5 g
Geloză	30 g
Lactoză	15 g
Soluţie apoasă 10% de turnesol	60 ml
sau	
Bulion simplu	1 000 ml
Geloză fibre	25 g
Lactoză soluţie 30%	45 ml
Natrium thiosulfat	1 g
Soluţie cristal violet 1‰	5 ml
Soluţie turnesol 10%	60 ml
pH final 7,2	

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică. Se prepară geloză obişnuit, apoi se adaugă în mod steril thiosulfatul, soluţia turnesol şi soluţia cristal violet.

În loc de soluţie de turnesol se poate utiliza ca indicator soluţie 0,4% de albastru de bromthimol 3 ml, mediul obţinînd în acest caz culoare verde.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	50 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	10 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	10 g
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	2 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	20 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	30 g
Cod 19 023	*Brom thimol blau*	0,10 g
Cod 19 714	*Genţiana violet*	0,10 g
Cod 20 002	*Lackmus pur*	10 g

Mediul cu bilă Istrate-Meitert

La 2 000 g geloză 3%, pH=7,6 se adaugă :

Sacharum lactis	28 g
Natriu thiosulfuric	16 g
Natriu citric	16 g
Bilă de bou uscată	16 g
Ferr. citric. in lamelis	4 g

Se sterilizează 30 de minute, la 110°, se adaugă în mod steril 60 ml soluţie albastru de bromthimol. Se ajustează pH-ul cu NaOH 10% pînă la culoare verde-olivă. Se introduce în autoclav la vapori deschişi, 15 minute. Se repartizează în plăci sterile. Se poate utiliza 2—3 zile.

Soluţia de albastru de bromthimol : 1 g albastru bromthimol se dizolvă în 25 ml hidroxid de sodiu N/10. Apoi se completează cu 475 ml apă distilată.

Reactivi necesari (pentru 100 de analize)

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	60 g
Cod 7 654 +)	*Ferrum citricum oxidatum in lamelis* pt. a.	4 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	10 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	16 g
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	16 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	20 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	28 g
Cod 19 023	*Brom thimol blau*	0,10 g

Scanned with OKEN Scanner

Extract de carne	0,5 g
Peptonă proteoză	0,5 g
Lactoză	1 g
Săruri biliare nr. 3 difco	0,85 g
Citrat de sodiu	0,85 g
Thiosulfit de sodiu	0,85 g
Citrat de fier	0,1 g
Agar	1,7 g
Roşu neutru	0,0025 g
Verde brillant soluţie apoasă 1/10 000	0,33 ml
Apă distilată	100 ml

Ingredientele vor fi dizolvate prin fierbere rapidă, se va potrivi pH-ul la 7,0—7,1 ; se repartizează în cutii Petri.

Mediul poate fi întrebuinţat după dorinţă şi fără adăugarea verdelui de brillant al cărui scop este de a inhiba creşterea anumitor coci.

Reactivi necesari (pentru 100 de analize)

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	26 g
Cod 7 654 +)	*Ferrum citricum oxidatum in lamelis* pt. a.	1,5 g
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	7,5 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	13 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	2 g
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	13 g
Cod 13 761	*Peptonum proteose bacto Difco* nr. 2	9,5 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a	15 g
Cod 20 046	*Malachit grün*	0,01 g
Cod 20 217	*Neutral rot*	0,05 g
	Săruri biliare nr. 3	13 g

Agar albastru de bromthimol-lactoză (L.B.A.)

Extract de carne	0,50 g
Peptonă bacto	1 g
Clorură de sodiu	0,30 g
Fosfat disodic $+12\,H_2O$	0,20 g
Lactoză	2 g
Geloză fibre	2,5 g
Soluţie albastru bromthimol	1,2 ml
Apă	100 ml

pH 7,2—7,4

Scanned with OKEN Scanner

Prepararea soluţiei bromthimol se face ca la mediul cu bilă.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	60 g
Cod 7 654 +)	*Ferrum citricum oxidatum in lamelis* pt. a.	4 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	10 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	16 g
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	16 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	20 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	20 g
Cod 19 023	*Brom thimol blau*	0,10 g

Mediul Levine

Agar-agar	20 g
Peptonă	10 g
Fosfat bipotasic anhidru	2 g
Apă distilată	1 000 ml

Ingredientele de mai sus se dizolvă la cald. Se filtrează. Nu este necesară ajustarea pH-ului.

Se repartizează în flacoane de 100 ml. Se sterilizează în autoclavă la 120°, timp de 30 de minute.

În momentul întrebuinţării, la 100 ml de geloză topită se adaugă 5 ml lactoză 20% sterilizată, 2 ml eosină galbenă 2% şi 1,3 ml soluţie albastru de metilen 0,5%. Se repartizează în plăci Petri.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	40 g
Cod 9 783	*Kalium phosphoricum bibasicum Sörensen* p. a.	40 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	10 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	20 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	20 g
Cod 19 441	*Eosin gelblich*	0,10 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	0,10 g

Mediul Wilson-Blair

Mediul se prepară în momentul întrebuinţării din :

Agar 2% fibre	100 ml
Sulfat feros soluţie 8%	1 ml
Verde-brillant soluţie 0,5%	1 ml
Amestec de bază	20 ml

Prepararea agarului. La 1 000 ml de macerație de carne se adaugă :

Peptonă	10 g
Clorură de sodiu	5 g
Geloză fibre	20 g

Se aduce cu hidrat de sodiu la pH=7,2, se autoclavează 10 minute la 120°, se filtrează și se sterilizează din nou 20 de minute, la 115°.

Prepararea soluțiilor de sulfat feros și verde-brillant. Se prepară soluție de sulfat feros 8% dizolvat în apă distilată rece sterilă. De asemenea soluția de verde-brillant 0,5% se prepară cu apă distilată rece sterilă. Soluțiile se păstrează luni de zile.

Prepararea amestecului de bază :

— *Bismutum amonium citricum* (1) 3 g

Se dizolvă în 25 ml apă distilată, sterilă, rece. Se adaugă, picătură cu picătură, 1 ml hidrat de sodiu 10%.

— *Natrium sulfurosum* p. a. (2) 10 g

Se dizolvă în 35 ml apă distilată, sterilă, rece.

— *Natrium fosforicum cryst.* p. a. + 12 mol. de apă (3) 12,6 g.

Se dizolvă în 15 ml apă distilată sterilă, încălzită la 50—60°.

— Glucoză (4) 10 g

Se dizolvă în 25 ml apă distilată, sterilă, rece. După dizolvare se fierbe 1 minut. Se răcește.

Amestecul de bază se obține prin amestecul soluțiilor 4+3+2+1. Bismutul se dizolvă ultimul, adăugîndu-se la sfîrșit, spre a nu pierde amoniacul care se dezvoltă.

Tehnică. În momentul întrebuințării, la 100 ml agar topit și răcit la 55°, se adaugă 1 ml soluție sulfat feros, 1 ml soluție verde-brillant și 20 ml amestec de bază. Se toarnă în plăci.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	40 g
Cod 4 155	*Bismutum ammonium citricum* p. a.	3 g
Cod 7 750	*Ferrum sulfuricum oxydulatum* p. a.	2 g
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	10 g
Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	10 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	10 g
Cod 12 217 A	*Natrium phosphoricum bibasicum* p. a.	12,60 g
Cod 12 369	*Natrium sulfurosum siccum* p. a.	10 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	20 g
Cod 20 046	*Malachit grün*	0,05 g

PENTRU CULTURA GONOCOCULUI

Mediul de transport Moffet-Young-Stuart

Apă distilată gelozată 0,3%	190 ml
Acid thioglicolic	0,2 g
Natriu glicero-fosforic soluție 20%	10 ml
Calciu clorat soluție 1%	2 ml
Albastru de metilen soluție 1%	0,04 ml

Scanned with OKEN Scanner

Sterilizare la 108°, 20 de minute. Mediul este incolor; dacă se albăstreşte nu se mai utilizează.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 1 061	*Acidum mercapto aceticum* 80% p. a. .	0,20 g
Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	6 g
Cod 5 036 +)	*Calcium chloratum cryst.* pt. a. . . .	0,20 g
Cod 11 975	*Natrium glicerophosphoricum* p. a. . .	10 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	0,02 g

Mediul Peitzer—Steffen

Mediul 1

Peptonă peptică	20 g
Natriu clorat	5 g
Geloză	25,5 g
Apă distilată	1 000 ml

Mediul al 2-lea

Plasmă sterilă de cal	15 ml
Hemoglobină sterilă de cal 5%	25 ml
(5 ml hematii de cal + 95 ml apă distilată)	
Soluţie 30% glucoză sterilă	0,35 ml
Soluţie 15% fosfat disodic sterilă . . .	5 ml

Se lichefiază mediul 1 şi se răceşte la 50°. La 150 ml din mediul 1, se adaugă 46 ml din mediul al 2-lea, se amestecă şi se toarnă în plăci sterile. Mediile se păstrează în plăci 7 zile, iar în baloane se poate păstra la frigider timp îndelungat.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	50 g
Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	2 g
Cod 11 760	*Natrium biphosphoricum Sörensen* p. a.	2 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	10 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	40 g

PENTRU CULTURA BACILULUI DIFTERIC

Mediul de îmbogăţire O.C.S.T.

Ser normal de bou	150 ml
Bulion glucozat 2‰	50 ml
Telurit de potasiu soluţie 2%	20 ml
Cistină soluţie 1%	2,2 ml
Gălbenuşuri de ou	2 bucăţi

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică. Se iau 2 ouă proaspete, se spală cu apă şi săpun şi se ţin 30 de minute în alcool de 70°. Se aşază în suportul de ouă, se şterg cu tinctură de iod şi se desfac steril. După ce se scurge albuşul se recoltează gălbenuşul într-un balon steril cu perle. Se amestecă şi se adaugă ingredientele de mai sus, sterilizate în prealabil. Se face controlul sterilităţii. Se păstrează la frigider. În momentul utilizării se repartizează cîte 5 ml, în tuburi 160/16.

Reactivi necesari (pentru 100 de probe)

Cod 6 118	*Cystinum D. L. purum*	0,50 g
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	2,50 g
Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	1 g
Cod 9 874	*Kallium telluricum* p. a.	1 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	2,5 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	5 g
	Ser normal de bou sau cal, produs al Inst. „Dr. I. Cantacuzino" 20 ml . .	30 fiole

Mediul Clauberg

Prepararea soluţiilor

Soluţie mamă de Wasserblau

Wasserblau . . . . . 1,75 g

Se dizolvă în apă distilată rece în 100 ml. Se sterilizează 20 de minute, la 105°.

Soluţie mamă de acetat de sodiu 25%, sterilizată 20 minute, la 105°.

Soluţie cistină. Se dizolvă în 10 ml apă distilată 1 g natrium carbonic anhidru. Se fierbe şi se adaugă la cald 1 g cistină. Se încălzeşte agitîndu-se şi se adaugă încă 90 ml apă distilată. Se sterilizează 20 de minute la 105° şi se păstrează la frigider în sticlă brună.

Soluţie glucoză. Glucoză 50%, sterilizată prin autoclavare timp de 20 de minute, la 105°. Se adaugă 15 ml la 50 ml mediu final.

Geloză 4% :	Macerat de carne . .	1 000 ml
	Peptonă	10 g
	Natrium clorat . . .	3 g
	Fosfat disodic . . .	2 g
	Geloză fibre . . .	40 g
	pH 7,4—7,5	

Se sterilizează 20 de minute la 120°. Se filtrează prin vată. Se repartizează în flacoane cîte 42 ml mediu. Se resterilizează 30 de minute, la 110°, se păstrează la rece.

Amestec de bază. Se prepară următoarele ingrediente :

— Sînge de berbec recoltat steril şi defibrinat. La o parte de sînge se adaugă 2 părţi apă distilată sterilă pentru hemoliză.

— Sînge de berbec glicerinat : 2 părţi sînge de berbec defibrinat se tratează cu o parte glicerină neutră sterilizată în prealabil 20 de minute, la 105°.

— Soluţie de telurit de potasiu : 1 g telurit de potasiu se dizolvă în 80 ml apă distilată. Se lasă 24 de ore, apoi se decantează supernatantul, care se păstrează. Se tratează sedimentul cu hidroxid de potasiu 1% pînă la clarificare. Se neutralizează cu acid clorhidric 10%. Se opreşte acidifierea în momentul în care se pro-

Scanned with OKEN Scanner

duce o ușoară opalescență care persistă. Se adaugă supernatantul decantat anterior, apoi se completează cu apă distilată la 100 ml. Se sterilizează 20 de minute la 105°. Se adaugă la 100 ml soluție 1, 5 ml soluție 2 și 8 ml soluție 3. Se păstrează la frigider 30—40 de zile.

Amestecul de bază are culoare roșie; dacă culoarea se schimbă în brun, mediul nu se va mai utiliza.

Tehnică. În 3 baloane se încălzesc la 48° următoarele ingrediente:

în balonul nr. 1:

Geloză topită și răcită la 48°	42 ml

în balonul nr. 2:

Wasserblau soluție 1,75%	6 ml
Cistină 1%	1,25 ml
Acetat de sodiu soluție 25%	0,6 ml
Glucoză soluție 50%	3 ml

în balonul nr. 3:

Amestec de bază	50 ml

Se toarnă 1 peste 3, apoi totul peste 2. Se repartizează în cutii Petri. Mediul are culoare roșie închisă. Se poate păstra la gheţar gata preparat 1—2 săptămîni.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	40 g
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	4 g
Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	30 g
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	100 g
Cod 9 874	*Kalium telluricum* p. a.	1 g
Cod 11 637	*Natrium aceticum anhydricum* p. a. . .	3 g
Cod 11 760	*Natrium biphosphoricum Sörensen* p. a.	2 g
Cod 11 843	*Natrium carbonicum anhydricum* p. a.	1 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	6 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	10 g
Cod 18 754	*Anilin blau aqua solubile*	0,25 g

Mediul Gundel—Tietz

Tehnică. La 100 ml geloză 2,5%, pH=7,4, topită și răcită la 45°, se adaugă steril 10 ml sînge defibrinat de iepure, oaie sau cal; 4 ml telurit de potasiu soluție 1% și 0,1 ml soluție cistină 1%. Ingredientele se prepară ca și pentru mediul Clauberg. Se repartizează în plăci Petri.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 6 118	*Cystinum D. L. purum*	1 g
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	8 g
Cod 9 874	*Kalium telluricum* p. a.	1 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	10 g
Cod 13 766	*Peptonum pro bacto purum*	20 g

Scanned with OKEN Scanner

Mediul pentru cercetarea cistinazei

(reducerea de H_2S)

Tehnică. La 90 ml geloză 2%, pH=7,4, topită şi răcită, la 45°, se adaugă steril 10 ml ser normal de bou, 2 ml soluţie cistină 1% şi 1 ml soluţie acetat de plumb 10%. Se repartizează în tuburi de hemoliză cîte 5 ml şi se răceşte drept.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 6 118	*Cystinum D. L. purum*	0,1 g
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	2,5 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	2,5 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	5 g
Cod 14 148	*Plumbum aceticum basicum cryst. purum*	5 g
	Ser normal de bou	1 fiolă

Mediul cu ser coagulat de bou (Löffler)

Bulion simplu (pH — 7,6)	500 ml
Ser normal de bou	1 500 ml
Soluţie apoasă glucoză 40%	12,5 ml

Tehnică. Într-un balon steril se amestecă 500 ml bulion simplu, cu pH=7,6, steril, 1 500 ml ser normal de bou steril şi 12,5 ml dintr-o soluţie sterilă 40% glucoză (concentraţia finală în glucoză — 0,25%). Se amestecă. Se repartizează în tuburi, în mod steril, o cantitate suficientă pentru a permite înclinarea tuburilor. Tuburile înclinate se lasă la baia de nisip timp de 1½ oră pînă la 2 ore, la 80—85°. Se controlează sterilitatea 24 de ore la 37°.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	2 g
Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	3 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	2,5 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	5 g
	Ser normal de bou	1 500 ml

PENTRU CULTURA BACILILOR KOCH

Mediul Löwenstein

Prepararea soluţiilor

Se dizolvă în 1 000 ml apă distilată, încălzită pînă la fierbere, următoarele substanţe:

Fosfat monopotasic	1 g
Citrat de sodiu	1 g
Sulfat de magneziu	1 g
Asparagină	3 g
Glicerină neutră	60 g

Scanned with OKEN Scanner

Soluția se sterilizează 2 ore la autoclava cu capacul deschis 100°. Este conservabilă.

Soluția de roșu de Congo sau soluția de verde malahit se prepară astfel: Se pulverizează fin colorantul într-un mojar și se adaugă apă distilată pentru a obține o soluție 2%. Aceasta se sterilizează 30 de minute la 120°.

Tehnică. Într-un balon steril cu perle, de 1 litru, se amestecă:

Soluție fosfat monopotasic	300 ml
Glicerină neutră sterilă	24 g
Fecule în cartofi	12 g

Se agită bine și se menține amestecul la 100°, timp de 15 minute, și apoi, la 56°, timp de o oră. Menținînd la 56° se adaugă 8 ouă întregi + 2 gălbenușuri, agitîndu-se bine.

Se adaugă 20 ml soluție roșu de Congo sau preferabil 10 ml verde malahit. Se agită. Se filtrează prin tifon. Se repartizează în mod steril în tuburi sterile, cîte 8 ml. Se înclină tuburile în baia de nisip și se coagulează 30 de minute la 85° și a doua zi 30 de minute, la 75°. Se încălzește. Se controlează sterilitatea 24 de ore, la 37°. Se păstrează la gheţar la +4°.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 3 544	*Asparaginum D. L. purum*	30 g
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	1 300 g
Cod 9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	10 g
Cod 10 742 +)	*Magnesium sulfuricum* pt. a.	10 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	10 g
Cod 20 046	*Malachit grün*	10 g

Mediul Dorset I

Ouă	9 părți
Apă distilată	1 parte

Tehnică. Se spală ouăle de găină cu apă caldă, săpun și peria; se șterg cu cîrpa uscată; se lasă 30 de minute în alcool de 70°; apoi se usucă între două foi de hîrtie de filtru. Se flambează cele 2 extremități ale ouălor. Cu o pensă sterilă se deschid cei doi poli și cu un tub de cauciuc steril adaptat la un tub de sticlă steril cu filtru de vată, se suflă printr-una din cele două deschizături ale oului, încît conținutul să iasă prin cealaltă deschizătură, într-un pahar steril. Se adaugă în mod steril, în prealabil cîntărit, o cantitate de apă distilată egală cu a 10-a parte din greutatea ouălor. Se agită. Se filtrează prin pînza sterilă (pîlnie cu tifon sterilă) și se repartizează în mod steril în tuburi cîte 7 ml. Se coagulează și se sterilizează în poziție înclinată la baia de nisip timp de 2 ore, la 70° (temperatura nisipului). Se verifică sterilitatea tuburilor, 3 zile, la 37°.

Scanned with OKEN Scanner

Mediul Dorset II

Ouă 3 părţi şi ser fiziologic 9‰ 1 parte.

Tehnica diferă de mediul pentru bacilii tuberculozei prin faptul că la 3 părţi ou se adaugă o parte ser fiziologic steril, iar sterilitatea se face la baia de nisip 2 ore, la 85°, în prima zi, iar a doua zi o oră la 85°.

Mediul Sauton

Asparagină	1 000 ml
Asparagină	4 g
Acid citric	2 g
Fosfat bipotasic	0,5 g
Sulfat de magneziu	0,5 g
Citrat de fier amoniacal	0,05 g
Glicerină	60 g
pH final 7,0—7,2	

Tehnică. În 250 ml de apă distilată încălzită la fierbere, se dizolvă următoarele substanţe în cantităţile şi în ordinea de mai jos :

Asparagină	4 g
Acid citric	2 g
Fosfat bipotasic	0,5 g
Sulfat de magneziu	0,5 g

Soluţia de mai sus se lasă să se răcească. În 250 ml de apă rece se dizolvă 0,05 g citrat de fier amoniacal. Se amestecă cele două soluţii şi se adaugă 60 g glicerină neutră. Se adaugă apă distilată pînă la 1 000 ml (spălînd cu această apă cilindrul în care s-a măsurat glicerina, pentru a se evita rămînerea unei părţi de glicerină pe pereţii vasului). Se aduce pH-ul la 7,2 soluţie de amoniac 10% (pentru alcalinizare) sau acid citric 10% (pentru acidifiere). Se filtrează prin hîrtie de filtru şi se repartizează în tuburi sau baloane Fourneaux. Se sterilizează 30 de minute la 115°.

Reactivi necesari (pentru 100 de culturi)

Cod 693	*Acidum citricum Sörensen cryst* p. a.	4 g
Cod 2 964	*Ammonium ferricitricum viride purum*	0,1 g
Cod 3 544	*Asparaginum D. L. purum*	8 g
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricus* p. a.	120 g
Cod 9 783	*Kalium phosphoricum bibasicum Sörensen* p. a.	1 g
Cod 10 742 +)	*Magnesium sulfuricum* pt. a.	10 g

Scanned with OKEN Scanner

3. REACȚII BIOCHIMICE DE IDENTIFICARE A GERMENILOR

a) *Fermentația hidraților de carbon și alcoolilor*

Mediul de bază :
(Nr. 1)

Extract de carne	0,5 g
Peptonă	1 g
Natriu chlorat	0,3 g
Fosfat disodic + 12 H_2O	0,2 g
Apă distilată	100 ml

pH = 7,4

Indicatori :

Roșu fenol	1 g
Hidrat de sodiu N/10	40 ml
Apă distilată	460 ml

Se adaugă în proporție de 1,25 ml% în bulionul de bază.

Tehnică. Zaharurile se adaugă la mediu înaintea sterilizării în proporție de 1%. Glucoza, lactoza și zaharoza se sterilizează în prealabil prin filtrare prin filtrul Seitz sau prin dizolvare în apă la fierbere, în soluție de 10%. Mediile cu glucoză se repartizează în tuburi cu tubușoare întoarse pentru captat gaze. Se vor încălzi la baia de apă la 100° cîteva minute pentu umplerea tuburilor.

Observații : Ca indicator, se poate folosi și soluția de albastru de bromtimol 2,4 ml % (vezi mediul cu bilă).

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 1 721	*Adoniton* p. a.	1 g
Cod 3 352	*Arabinoza D. L. purum*	1 g
Cod 5 312	*Cellobiosa purum*	1 g
Cod 7 041	*Dulcit* p. a.	1 g
Cod 7 043	*Dulcit izo* p. a.	1 g
Cod 7 776	*Fleisch extract Liebig* p. a.	2 g
Cod 8 005	*Galactose D.* p. a.	1 g
Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	1 g
Cod 9 265	*Inositum* p. a.	1 g
Cod 10 845	*Manittum purum*	1 g
Cod 11 760	*Natrium biphosphoricum Sörensen* p. a.	1 g
Cod 11 860	*Natrium chloratum* chimic pur	1,2 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	4 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	4 g
Cod 14 701	*Rafinosa anhydrica* p. a.	1 g
Cod 15 005	*Sacharosa* p. a.	1 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	1 g
Cod 15 022	*Salicin purum*	1 g
Cod 15 188	*Sorbitolum D. L. purum*	1 g
Cod 16 174	*Trehalosa* p. a.	1 g
Cod 16 998	*Xylosum D. L.* p. a.	1 g
Cod 20 490	*Phenol rot*	1 g

Scanned with OKEN Scanner

b) *Testul cu amidon* (Hormaeche şi Munilla, 1957)

Tehnică. Se dizolvă 1 g de amidon în apă prin fierbere timp de 5 minute, agitîndu-se continuu. Gelul rezultat se amestecă cu bulionul de bază de mai sus (nr. 1). Se repartizează în eprubete sterile cu tub de gaz şi se sterilizează 15 minute, la 110°. Se însămînţează cu culturi în bulion de 24 de ore. Dacă în a 4-a zi nu apare gaz în tuburi se va introduce în mediu ansa încălzită la roşu pentru eliberarea gazului, în cazul în care el este prezent.

c) *Producerea de indol*

Apa peptonată :

Peptonă Witte	1 g
Natriu clorat	0,5 g
Apă distilată	100 ml

pH 7—7,2

Metoda Gnezda

Se impregnează benzi de hîrtie de filtru în soluţie apoasă saturată de acid oxalic. Se usucă şi se va introduce cîte 1 fişie între peretele eprubetei de cercetat şi dopul de vată. Se incubează 48 de ore. Culoarea trandafirie a hîrtiei indică producerea de indol. Dacă testul este negativ se va adăuga reactiv Erlich (1—2 ml) şi se citeşte după cîteva minute. Reacţia pozitivă este indicată prin producerea unui inel roşu.

Reactivul Erlich

p. dimetilamidobenzaldehidă	2 g
Alcool etilic	190 ml
Acid clorhidric	40 ml

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	40 ml
Cod 1 249	*Acidum oxalicum* p. a.	10 g
Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a.	190 ml
Cod 6 718	*Para dimethyl amido benzaldehydum para* p. a.	2 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	2,5 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	5 g

d) *Producerea de hidrogen sulfurat*

Testul cu gelatină cloruroferoasă (Kaufmann)

Extract de carne	0,75 g
Peptonă	2,5 g
Clorură de sodiu	0,50 g
Gelatină	12 g
Clorură feroasă soluţie 10%	0,5 ml
Apă distilată	100 ml

Scanned with OKEN Scanner

Se fierbe pentru dizolvarea ingredientelor şi se adaugă clorura feroasă proaspăt preparată. Se încălzeşte 10 minute la autoclavă deschisă. Se repartizează steril în eprubete înguste, care se răcesc imediat. Dopurile se parafinează. Se inoculează prin înţepare şi se incubează la temperatura camerei 7—60 de zile, pentru lichefierea gelatinei. Citirea se va face după cel puţin 3 zile.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 7 641	*Ferrum chloratum oxydulatum* p. a. .	0,25 g
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	3,25 g
Cod 8 038	*Gelatina* p. a.	60 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	2,5 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	7,5 g

Testul cu apă peptonată

Se prepară apă peptonată 2% şi se repartizează cîte 3 ml în eprubete. Se sterilizează 15 minute, la 120°. Se impregnează fîşii de hîrtie de filtru în soluţie saturată de acetat de plumb şi se usucă. Se introduc benzile de hîrtie în eprubetele de testat între eprubetă şi dop. Se incubează la 37° şi se citeşte după 48 de ore.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	1,5 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	6 g
Cod 14 148	*Plumbum aceticum basicum cryst. purum*	20 g

e) *Reacţia roşului de metil*

Soluţia tampon de glucoză peptonă

Fosfat bipotasic	0,5 g
Peptonă Witte	0,5 g
Glucoză	0,5 g
Apă distilată	100 ml

Se sterilizează 15 minute, la 120°. Se adaugă glucoza sterilizată în prealabil. Se distribuie în eprubete sterile.

După 4 zile de incubare la 37° se adaugă 21 de picături din soluţia de roşu de metil. Reacţia pozitivă este indicată de culoarea roşie.

Soluţia de roşu de metil

Roşu de metil	0,1 g
Alcool etilic 95%	300 ml
Apă distilată	500 ml

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de testări)

Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	300 ml
Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	5 g
Cod 9 783	*Kalium phosphoricum bibasicum Sörensen* p. a.	5 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	5 g
Cod 20 096	*Methyl rot aqua solubile*	0,1 g

f) *Testul Voges—Proskauer pentru acetilmetilcarbinol*

Prepararea reactivului Barritt

α-naftol	6 g
Alcool 96%	100 ml

Se va păstra la întuneric în sticlă brună. Cînd α-naftolul capătă culoarea brună nu se va mai utiliza.

Se utilizează mediul anterior (reacţia roşului de metil).

Tehnică. Se însămînţează 2 eprubete cu mediul de mai sus şi se incubează la 37°. Prima se citeşte după 2 zile, cea de a doua după 4 zile. Se adaugă la citirea fiecărei eprubete, 0,4 ml hidroxid de potasiu 40%, se agită şi se picură 0,5 ml reactiv Barritt, fără ca să se amestece cu mediul. În cazul reacţiei pozitive, va apărea un inel roşu-violet.

Reactivi necesari (pentru 100 de testări)

Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	5 g
Cod 9 672	*Kalium hydricum in rotulis* p. a. . .	25 g
Cod 9 783	*Kalium phosphoricum bibasicum Sörensen* p. a.	50 g
Cod 11 560	*α-naphtolum pulvis.* p. a.	6 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	5 g

g) *Testul Koser pentru utilizarea citratului ca sursă de carbon*

Compoziţia mediului :

Clorură de sodiu	0,5 g
Sulfat de magneziu	0,02 g
Fosfat de amoniu dihidrogenat	0,1 g
Fosfat bipotasic	0,1 g
Citrat de sodiu	0,5 g
Agar-agar	2 g
Apă distilată	100 ml
Soluţie albastru de bromtimol	4 ml

Tehnică. Se distribuie în eprubete, se sterilizează 15 minute, la 120°, se răceşte înclinat, cu panta de 4 cm şi cotor de 2,5 cm. Se însămînţează suprafaţa înclinată şi se înţeapă în adîncime partea groasă. Se incubează, la 37°, 4 zile. Testul pozitiv este dat de prezenţa creşterii şi virarea mediului în albastru.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	2 287	*Agar-agar fillis*	4 g
Cod	3 039 +)	*Ammonium phosphoricum monobasicum* pt. a.	0,2 g
Cod	9 783	*Kalium phosphoricum bibasicum Sörensen* p. a.	50 g
Cod	10 742 +)	*Magnesium sulfuricum* pt. a.	0,2 g
Cod	11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	1 g
Cod	11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	1 g

h) *Testul de inhibiţie cu cianură de potasiu* (Moeller)

Peptonă orthana sau proteosă-peptonă	1 g
Natriu clorat	0,5 g
Fosfat monopotasic	0,022 g
Fosfat bipotasic	0,564 g
Apă distilată	100 ml
pH 7,6	

Tehnică. Se sterilizează, la 120°, 15 minute, iar după răcire se adaugă 1,5 ml soluţie cianură de potasiu 0,5%, sterilizată în prealabil. Se distribuie în eprubete şi se închide cu dopuri parafinate. Se păstrează mai multe săptămîni la frigider. Se inoculează cu o ansă din cultura de bulion de 24 de ore şi se incubează la 37° timp de 2 zile. Creşterea germenilor, indică reacţia pozitivă.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	9 783	*Kalium phosphoricum bibasicum Sörensen* p. a.	0,6 g
Cod	9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	0,02 g
Cod	11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	5 g
Cod	13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	10 g

i) *Testul reducerii nitraţilor în nitriţi*

Mediul cu apă peptonată

Nitrat de potasiu fără nitriţi	0,02 g
Peptonă bacto	0,5 g
Apă distilată	100 ml

Tehnică. Se distribuie în eprubete, se sterilizează 20 de minute la 120°. Eprubetele însămînţate se incubează 4 zile, la 37°, apoi se adaugă 2—3 picături din reactivul cu acid sulfanilic (acid sulfanilic 0,80 g, acid acetic 5 N 100 ml) şi 2—3 picături din reactivul cu α-naftilamină (α-naftilamină 0,5 g, acid acetic 5/N 100 ml). Prezenţa nitriţilor se traduce prin culoarea roşie-trandafirie.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	150 ml
Cod	242 +)	*Acidum sulfanilicum* pt. a.	0,8 g
Cod	9 736 +)	*Kalium nitricum* p. a.	0,1 g
Cod	11 587	*α-naphtylaminum purum*	0,5 g
Cod	13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	2,5 g

j) *Testul ureazei* (Kristensen modificat)

Mediul de bază :

Peptonă bacto	0,1 g
Clorură de sodiu	0,5 g
Fosfat monopotasic	0,2 g
Roşu crezol soluţie 4‰	2,4 ml
Apă distilată	100 ml
pH 6,7	

Prepararea soluţiei roşu de crezol

Roşu de crezol	1,1 g
Hidroxid de sodiu N/50	13,1 ml
Apă distilată	237 ml

Tehnică. Sterilizare 20 de minute, la 120°. Se adaugă 2 g uree sterilizată în prealabil prin Seitz ; se distribuie în tuburi sterile. Reacţia pozitivă se traduce prin apariţia culorii roşii-purpurii după 4 zile de incubare la termostat.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	2 g
Cod	11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	5 g
Cod	13 749	*Peptonum bacto siccum* p. a.	1 g
Cod	19 196	*Cresol sulfon phtalein orto*	1,1 g

k) *Testul decarboxilazei*

Peptonă specială Ortana	0,5 g
Extract de carne	0,5 g
Bromcrezol purpur 1 : 500	0,5 ml
Roşu de crezol 1 : 500	0,25 ml
Piridoxal	0,05 mg
Glucoză	0,05 g
Apă distilată	100 ml

Prepararea indicatorilor

Brom crezol purpur	1 g
Hidroxid de sodiu N/5	9,25 ml
Apă distilată	500 ml

*

Roşu crezol	1 g
Hidroxid de sodiu N/5	13,1 ml
Apă distilată	500 ml

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică. Se fierb ingredientele cîteva minute, se filtrează prin hîrtie de filtru şi apoi se adaugă 1 din cei 4 acizi pentru testare :

— lizină dihidroclorică	1 g
— arginină monohidroclorică	1 g
— acid glutamic	1 g
— ornithină dihidroclorică	1 g

Se ajustează pH = 5,6 şi se repartizează în eprubete de 120/10, cîte 1 ml. Se adaugă în fiecare eprubetă 0,5 ml parafină şi se sterilizează 15 minute, la 115°. Se însămînţează din cultură pe agar şi se incubează mai multe zile. Reacţiile pozitive vor prezenta o virare a culorii roşie-violacee, în 1—2 zile, iar cele slab pozitive, de la a 5-a zi.

Reactivi necesari (pentru 100 de testări)

Cod 859	*Acidum glutaminicum L purum*	1 g
Cod 3 463	*Argininum L. Difco*	1 g
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	2 g
Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	0,2 g
Cod 10 401	*Lysinum L. purum*	1 g
Cod 13 749	*Peptonum bacto sicc* p. a.	2 g
Cod 14 389	*Pyridoxal purum*	1 g
Cod 19 003	*Brom cresol purpur*	0,1 g
Cod 19 196	*Cresol sulfon phtalein orto*	0,1 g

l) *Testul bulion glicerină-fucsină Stern*

Mediul de bază :

Extract de carne	2 g
Peptonă	2 g
Clorură de sodiu	0,5 g
Apă distilată	100 ml
pH 7,4—7,6	

Tehnică. Se sterilizează 20 de minute la 120°. La mediul de mai sus se adaugă înainte de întrebuinţare 0,2 ml soluţie fucsină bazică saturată în alcool şi 2 ml soluţie proaspătă sulfit de sodiu 10%. Se adaugă apoi 0,88 ml glicerină neutră pură la 100 ml mediu şi se repartizează steril în eprubete sterile. Se sterilizează la autoclavă deschis 10 minute. Dacă culoarea mediului devine trandafirie sau roşie, se aruncă. Reacţiile pozitive vor prezenta culoare roşie sau violacee.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 7 775	*Fleisch extrakt Lablenco purum* sau	20 g
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	20 g
Cod 11 860	*Natrium chloratum* chimic pur	5 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	20 g
Cod 12 369	*Natrium sulfurosum sicc.* p. a.	1 g
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	1 g

Scanned with OKEN Scanner

m) *Agarul feros triplu zahăr Kligler*

Mediul se realizează prin amestecul următoarelor ingrediente:

Extract de carne	2,4 g
Extract de drojdie	2,4 g
Peptonă bacto	12 g
Peptonă proteoză	4 g
Lactoză	8 g
Zaharoză	8 g
Glucoză	0,8 g
Sulfat de fier	0,16 g
Clorură de sodiu	4 g
Thiosulfat de sodiu	0,24 g
Roşu de fenol	0,019 2 g
Agar-agar	9,6 g
Apă distilată	800 ml

Tehnică. Se sterilizează 15 minute, la 120°. Se repartizează în eprubete şi se răceşte înclinat, cu panta de 4 cm şi cotor de 2,5 cm.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	9,6 g
Cod 7 750	*Ferrum sulfuricum oxydulatum* p. a.	0,16 g
Cod 7 777	*Fleisch extrakt Liebig purum*	2,4 g
Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	0,8 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum purum*	4 g
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	0,24 g
Cod 13 749	*Peptonum bacto siccum* p. a.	12 g
Cod 13 761	*Peptonum proteose bacto Difco* nr. 2	4 g
Cod 15 005	*Sacharosa* p. a.	8 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	8 g
Cod 20 490	*Phenol rot*	0,019 2 g
	Extract de drojdie	2,4 g

n) *Mediul Gabrielli* (motilitate, indol, uree M.I.U.)

Peptonă	3 g
Fosfat monopotasic	0,2 g
Clorură de sodiu	0,5 g
Agar-agar	0,3 g
Roşu fenol soluţie alc. 2%	0,2 ml
Apă distilată	100 ml

Tehnică. Se fierbe, se filtrează prin hîrtie şi se sterilizează 15 minute la 120°. Se adaugă apoi 10 ml soluţie 20% de uree sterilă. Se repartizează cîte 5 ml în eprubete sterilizate şi se răceşte.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	3 g
Cod 9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	2 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	5 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	30 g
Cod 16 443 +)	*Ureea* pt. a.	20 g
Cod 20 490	*Phenol rot*	0,2 g

III. TESTĂRI IMUNOLOGICE ŞI SEROLOGICE

1. REACŢII PENTRU TESTAREA STĂRII DE ALERGIE SAU A STĂRII DE RECEPTIVITATE FAŢĂ DE BOLILE TRANSMISIBILE

a) *Reacţia Schick*

Tehnica intradermoreacţiei : Se inoculează intradermic, pe faţa anterioară a braţului drept, după aseptizare cu alcool, 0,2 ml toxină activă. În aceleaşi condiţii, se inoculează pe antebraţul stîng 0,2 ml toxină martor.

Rezultate. Citirea se face după 24, 48 şi 72 de ore.

Reacţia negativă : nu se observă nici o reacţie la locul de inoculare a toxinei sau a martorului. Persoana testată este imună contra difteriei.

Reacţia pozitivă : la locul de inoculare a toxinei apare o reacţie. Persoana testată este susceptibilă faţă de toxiinfecţia difterică.

Reacţia intens pozitivă +++, dacă diametrul zonei de reacţie este peste 20 mm, cu papulă centrală.

Reacţie pozitivă ++ ; zona de reacţie de peste 20 mm fără papulă centrală.

Reacţie slab pozitivă + ; dacă diametrul zonei de reacţie este 12 mm.

Reacţie dubioasă ±, dacă zona de reacţie are diametrul sub 10 mm.

Pseudoreacţie : dacă s-a înregistrat o reacţie atît la toxină, cît şi la martor. În acest caz se mai face o citire după 5—7 zile. Dacă reacţia la toxină mai persistă, iar la martor a dispărut, testarea se consideră pozitivă.

Reacţie falsă poate să apară în cazul în care persoana respectivă a primit ser de cal în scop terapeutic, cu cîteva zile înainte.

Reactivi necesari (pentru 100 de testări)

Toxină pentru intradermoreacţia Schick (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino")	100 de fiole
Toxină martor inactivată	100 de fiole

b) *Intradermoreacţia Dick*

Tehnică. După dezinfecţia pielii se inoculează intradermic pe faţa anterioară a braţului drept 0,1 ml toxină Dick, iar la braţul stîng se inoculează 0,1 ml toxină martor inactivată la 100°.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultate. Citirea se face după 24 de ore.

Reacţie negativă : nu se observă nici o reacţie.

Reacţia pozitivă : la locul de inoculare a toxinei apare o roşeaţă cu diametrul de cel puţin 10 mm.

Reacţia pozitivă se notează astfel : +++, dacă diametrul este peste 30 mm ; cu ++, dacă diametrul este peste 20 mm şi +, dacă diametrul este peste 10 mm.

Pseudoreacţia negativă : roşeaţă cu aspect identic, atît la toxină, cît şi la martor.

Reacţiile apar după 6—12 ore, durează 2—3 zile şi lasă uneori în urma lor o zonă pigmentată, urmată de descuamaţie.

Reactivi necesari (pentru 100 de testări)

Toxină Dick pentru intradermoreacţie (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino“) . . . . . 100 de fiole
Martor pentru reacţia Dick . . . . . 100 de fiole

c) *Intradermoreacţia de stingere Schultz—Charlton*

Tehnică. Se injectează intradermic, în zona în care a apărut exantemul 0,2 ml ser antiscarlatinos diluat 1/10 sau 0,2 ml ser de convalescent de scarlatină.

Rezultate. Dacă după 6—8 ore se observă pălirea exantemului în jurul locului de injecţie, acest exantem este scarlatinos.

Reactivi necesari (pentru 100 de testări)

Ser antiscarlatinos (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino“) . . . . . 100 de fiole

d) *Reacţia la tuberculină*

Se practică două reacţii :

Cutireacţia von Pirquet

Tehnică. În treimea superioară a antebraţului se practică după antiseptizare trei scarificări, la distanţă de 2—3 cm, fără a se produce sîngerarea. Pe două scarificări se depune o picătură de tuberculină brută, iar pe cea de a treia, care serveşte drept martor, nu se depune tuberculină. Se lasă să se usuce, reacţia se citeşte după 24 de ore.

Rezultate. Reacţia este pozitivă dacă la locul de aplicare a tuberculinei apare o zonă eritematoasă cu edem subcutanat.

Reactivi necesari (pentru 100 de testări)

Tuberculină brută (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino“) . . . . . 100 de fiole

Intradermoreacţia Mantoux

Tehnică. Se injectează intradermic pe faţa anterioară a antebraţului drept, după aseptizare 0,2 ml tuberculină diluată 1 : 10 000. Citirea se face după 48—72 de ore.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultate. Reacţia este considerată pozitivă dacă apare o zonă edematoasă de 10 mm înconjurată de eritem. Dacă reacţia este mai mică se practică noi testări cu tuberculină diluată 1 : 5 000, 1 : 1 000 sau chiar 1 : 100.

Reactivi necesari (pentru 100 de testări)

Tuberculină 1 : 10 000 (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino") . . . . . 100 de fiole
Tuberculină diluată 1 : 1 000 . . . . . 30 de fiole
Tuberculină brută . . . . . 20 de fiole

e) *Intradermoreacţia Cassoni*

Tehnică. Se inoculează intradermic 0,2 ml antigen, pe faţa anterioară a antebraţului drept, după aseptizare. În aceleaşi condiţii se injectează martorul la antebraţul stîng. Se fac două citiri : la 30 de minute şi la 24 de ore.

Rezultate. Reacţia pozitivă : la 15—30 de minute apare o papulă cu un halo congestiv şi margini neregulate şi atinge o dezvoltare maximă la 3—4 ore. La martor reacţia este negativă. După 24 de ore se face o a doua citire.

Interpretare : Reacţia pozitivă atît la citirea după 30 de minute, cît şi după 24 de ore, cu martori negativi, se consideră pozitivă. Reacţia pozitivă la 30 de minute şi negativă la 24 de ore, cu martor negativ, se consideră tot pozitivă. Reacţia dubioasă se consideră reacţia negativă la 30 de minute şi pozitivă la 24 de ore, cu martor negativ.

Reactivi necesari (pentru 100 de testări)

Antigen Cassoni (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino") . . . . . 100 de fiole
Martor . . . . . 100 de fiole

f) *Intradermoreacţia în trichinoză*

Tehnică. Se inoculează intradermic, pe faţa anterioară a antebraţului drept după aseptizare, 01 ml antigen de *trichinella spiralis* diluat 1:10 000. La antebraţul stîng se inoculează 0,1 ml martor.

Citirile se fac după 30—60 de minute şi 24 de ore.

Rezultate. Reacţia pozitivă precoce apare după 5 minute, în formă de veziculă albă-roz, înconjurată de o zonă eritematoasă, cu contur neregulat. Reacţia păleşte şi dispare după 30—60 de minute.

Reacţia tardivă : fenomenele descrise apar după 18—24 de ore.

Reactivi necesari (pentru 100 de testări)

Antigen trichinella spiralis (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino") . . . . . 100 de fiole
Martor . . . . . 100 de fiole

Scanned with OKEN Scanner

g) *Intradermoreacţia la tularină*

Tehnică. Se inoculează după dezinfecţia pielii pe faţa anterioară a antebraţului drept, 0,1 ml antigen, strict intradermic.

Rezultate. Reacţia pozitivă : la locul de inoculare apare o roşeaţă şi o tumefiere a regiunii, care se menţine 2—3 zile. Citirea se face după 24 şi 48 de ore.

Reactivi necesari (pentru 100 de testări)

Tularina (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino") 100 de fiole

h) *Intradermoreacţia în bruceloză*

Tehnică. După dezinfecţia pielii se inoculează la antebraţ, strict intradermic, 0,1 ml brucelină. Citirile se fac la 24 şi 48 de ore. Reacţiile care dispar în primele 24 de ore se consideră nespecifice şi negative.

Rezultate.

++++ : foarte intens pozitive se consideră reacţiile care constau în edem şi eritem cu diametrul de 6 cm şi care persistă 2—6 zile.

+++ : reacţii intens pozitive edem şi eritem cu diametru de 4 cm care persistă 4 zile.

++ : reacţie moderată cu diametrul zonei eritematoase de 3—4 cm avînd şi edem cu durata 1—4 zile.

+ : reacţie uşoară — slab pozitivă — cu edem şi eritem net de 1—2 cm.

Reacţia dubioasă $\pm$ dacă prezintă numai eritem uşor fără edem.

Reactivi specifici (pentru 100 de testări)

Brucelină (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino") 100 de fiole

2. REACŢII DE AGLUTINARE

a) *Reacţia de aglutinare cu antigenul tularemic*

Tehnică. Se face o scară de diluţii progresive din serul de cercetat de la 1:20 pînă la 1:2 560, în volum de 0,5 ml, diluţiile făcîndu-se cu ser fiziologic steril. Se adaugă 0,5 ml antigen tularemic nediluat în fiecare eprubetă. Se face şi un martor care să conţină numai 0,5 ml antigen şi 0,5 ml ser fiziologic. Se incubează 2 ore la baia de apă la 50° după care se face o primă citire şi se păstrează la frigider pînă a doua zi cînd se va face citirea definitivă.

Rezultate. Tuburile care după 24 de ore au un depozit evident care se suspendă în granulaţii fine, prin agitare, se consideră cu aglutinare pozitivă. Dacă titrul aglutinării este peste 1 : 80, reacţia se consideră pozitivă. Martorul nu trebuie să fie aglutinat.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de reacţii)

Cod 11 860 +) *Natrium chloratum chimic purum* . . 8,5 g
Antigen tularemic (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino") a 10 ml . . . 100 de fiole

b) *Reacţia Wright*

Tehnică. Serul de cercetat se diluează în soluţie clorurosodică izotonică, conform schemei de mai jos. Antigenul Wright se agită şi diluează conform indicaţiilor de pe eticheta flaconului. Se adaugă cîte 0,5 ml antigen Wright în fiecare eprubetă. Se incubează 24 de ore, la termostat 37°, se lasă o oră la temperatura camerei şi se citeşte rezultatul. Se lucrează steril.

Rezultate. Reacţie negativă : suspensia rămîne tulbure omogen, atît în tubul de reacţie, cît şi în tubul martor.

Reacţie pozitivă : se formează sediment în formă de umbrelă cu lichidul supernatant clar. După agitare sedimentul se desface în granule. Martorul rămîne negativ.

Reacţia se consideră pozitivă la un titru 1 : 100.

Schema reacţiei

Nr. tubului	1	2	3	4	5	6	Martor
Ser de bolnav	0,08	(după ce se amestecă serul de cercetat cu serul fiziologic, se iau 0,5 ml din tubul 1 şi se adaugă în tubul 2 ş.a.m.d.)					
Ser fiziologic	0,92	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Antigen Wright diluat	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Diluţie finală	1:25	1:50	1:100	1:200	1:400	1:800	

Reactivi necesari (pentru 100 de reacţii)

Cod 11 860 +) *Natrium chloratum chimic purum* . . 8,5 g
Antigen Wright (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino") . . . . . 10 flacoane

c) *Reacţia inelară cu antigenul brucelos*

Tehnică : la 1 ml lapte proaspăt şi nedegresat, se adaugă o picătură antigen, apoi se agită bine eprubeta. Se lasă 30—60 de minute la 37° sau 2—3 ore la temperatura camerei, apoi se face citirea.

Rezultate. Reacţia negativă : laptele din eprubetă este colorat uşor în roz, iar la suprafaţă se formează un inel alb.

Reacţia pozitivă : la suprafaţa laptelui s-a format un inel roşu de 3—4 mm, iar coloana de lapte s-a decolorat.

Antigenul se agită bine înainte de utilizare.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de reacţii)

Antigen brucelos pentru reacţia inelară (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino") . . . . . 2 flacoane

d) *Reacţia Huddleson*

Tehnică. Pe o placă de sticlă se pun picătură lîngă picătură, ser de cercetat şi antigen Huddleson, conform schemei de mai jos. Cu colţul unei lame de sticlă se amestecă picătura de ser cu cea corespunzătoare de antigen, începînd cu diluţia cea mai mică şi mergînd spre cea mai mare. Placa se încălzeşte la 37° 1—2 minute. Se citeşte cu ochiul liber după maximum 8 minute.

Rezultate. Reacţia se consideră pozitivă dacă apar aglutinine de culoare violetă la un titru de 1 : 100.

Schema reacţiei

Nr. tubului	a	b	c	d	Martor
Ser de cercetat	0,08	0,04	0,02	0,01	—
Antigen Huddleson	0,03	0,03	0,03	0,03	0,03
Ser fiziologic	—	—	—	—	0,03
Diluţia	1/50	1/100	1/200	1/400	—

Reactivi necesari (pentru 100 de reacţii)

Cod 11 860 +) *Natrium chloratum chimic purum* . . 0,5 g

Antigen Huddleson (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino") . . . . . 1 flacon

e) *Reacţia Widal calitativă*

Reactivi: suspensie formolată tific 901 H, paratific AH şi paratific BH ; suspensie alcoolată tific 901 O, paratific AO şi paratific BO ; ser de cercetat ; ser fiziologic steril.

Tehnică. Suspensiile formolate se utilizează nediluate, agitîndu-se în prealabil, iar cele alcoolate se agită şi apoi se diluează conform indicaţiilor de pe flacon.

Se pregătesc 6 serii cu cîte 7 tuburi de aglutinare.

Serurile clare, nehemolizate şi neinactivate, se diluează conform schemei de mai jos. Se adaugă 0,6 ml suspensie H sau O. Se incubează în baia de apă la 52°.

Citirea se face după 2 ore, la 52° şi 30 de minute, la temperatura camerei pentru antigenele H şi după 18—24 de ore, la 52°, şi 30 de minute la temperatura camerei pentru antigenele O. În lipsa băii de 52°, tuburile se pot incuba 24 de ore la 37°.

Rezultate. Reacţia negativă : tuburile de reacţie au acelaşi aspect ca şi tubul martor.

Reacţia pozitivă : antigenii H aglutinează în flocoane mari, pufoase, care se detaşează uşor.

Antigenii O aglutinează în grunji mici, care se detaşează greu.

Schema reacţiei

Nr. tubului	1	2	3	4	5	6	Martor
Ser de cercetat diluat 1:10	0,4	0,2	0,1	—	—	—	—
Ser de cercetat diluat 1:100	—	—	—	0,4	0.2	0,1	—
Ser fiziologic	—	0,2	0,3	—	0,2	0.3	0,4
Suspensie H sau O	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
Diluţie	1/25	1/50	1/100	1/250	1/500	1/1000	—

Seroreacţia calitativă poate fi considerată pozitivă, la un titru de 1 : 500 pentru antigenii O şi 1 : 1 000 pentru antigenii H. Se va ţine seama de dinamica anticorpilor, aspectele clinice şi datele epidemiologice.

Reactivi necesari (pentru 100 de seroreacţii)

Cod 11 860 +) *Natrium chloratum* chimic pur . . . 8,5 g
Suspensie formolată tific (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino") . . 2 flacoane
Suspensie formolată paratific A. H. . . 2 flacoane
Suspensie formolată paratific B.H. . . 2 flacoane
Suspensie formolată tific O . . . . 2 flacoane
Suspensie formolată paratific A.O. . . 2 flacoane
Suspensie formolată paratific B.O. . . 2 flacoane

f) *Reacţia Weil — Felix*

Tehnică. Serul limpede şi nehemolizat se diluează conform schemei de mai jos. Se adaugă suspensie alcoolată de Proteus O X 19, diluată conform indicaţiilor de pe flacon, după ce acesta a fost bine agitat. Se incubează 2 ore şi 1/2, la 37°, şi 18—24 de ore la temperatura camerei.

Rezultate. Reacţia negativă : suspensia are acelaşi aspect, atît în tubul de reacţie, cît şi în tubul martor.

Reacţia pozitivă : aglutinare cu caracter granular.

Reacţia se consideră pozitivă la titrul de cel puţin 1 : 500. Se urmăreşte dinamica anticorpilor. Persoanele vaccinate pot avea un titru sub 1 : 250. În caz de reîmbolnăvire, titrul este mai mic.

Scanned with OKEN Scanner

Schema reacţiei

Nr. tubului	1	2	3	4	5	6	7	8	9	Martor
Ser de cercetat diluat 1:10	0,4	0,2	0,1	—	—	—	—	—	—	—
Ser de cercetat diluat 1:100	—	—	—	0,4	0,2	0,1	—	—	—	—
Ser de cercetat diluat 1:1 000	—	—	—	—	—	—	0,4	0,2	0,1	—
Ser fiziologic	—	0,2	0,3	—	0,2	0,3	—	0,2	0,3	0,4
Suspensie Proteus O X 19 diluată	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6	0,6
diluţii	1/25	1/50	1/100	1/250	1/500	1/1000	1/2 500	1/5 000	1/10 000	—

Reactivi necesari (pentru 100 de reacţii)

Cod 11 860 +) *Natrium chloratum* chimic pur . . . 0,85 g
Suspensie alcoolată Proteus O X 19
(produs de Inst. „Dr. I. Cantacuzino“) 2 flacoane

g) *Reacţia Kudicke—Steuer*

Tehnică. Se recoltează din pulpa degetului 2 picături de sînge, cu diametrul de 1—1,5 cm. Lamele cu sînge se lasă să se usuce într-un loc adăpostit de praf şi de muşte. După ce picăturile s-au uscat, se notează cu un creion negru pe picătură numărul de ordine al probei. Se depune cu pipeta Pasteur cîte o picătură antigen Proteus O X 19 nediluat, peste picătura groasă de sînge, astfel ca aceasta să fie acoperită complet cu antigen. Se înclină uşor lama în diferite sensuri, pentru a se amesteca antigenul cu picătura de sînge. După 10—12 minute se citeşte reacţia.

Rezultate. Reacţia negativă: amestecul de antigen sînge rămîne opalescent.

Reacţia pozitivă: suspensia de Proteus O X 19 este aglutinată.

Reacţia Kudicke—Steuer fiind o reacţie de orientare, trebuie în mod obligatoriu completată cu reacţia Weil—Felix şi cu R.F.C.

Reactivi necesari (pentru 100 de reacţii)

Suspensie alcoolată Proteus O X 19 (produs de Inst. „Dr. I. Cantacuzino“) . . . . . 1 flacon

h) *Reacţia de aglutinare cu antigen Vi*

Tehnică. Serul de cercetat nehemolizat şi neinactivat se diluează conform schemei de mai jos.

Scanned with OKEN Scanner

Schema reacţiei

Nr. tubului	1	2	3	4	5	Martor
Ser de cercetat	0,2	se trec cîte 0,5 ml din tub în tub				—
Ser fiziologic	0,8	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Antigen Vi formolat diluat	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Diluţie finală	1/10	1/20	1/40	1,80	1/160	

Se adaugă 0,5 ml suspensie formolată tific Vi, diluată conform indicaţiilor de pe eticheta flaconului. Se incubează 2 ore la 37°, apoi 20 de ore la temperatura camerei.

Antigenul se va agita înainte de diluare.

Serul de cercetat se amestecă cu soluţia clorurosodică izotonică din tubul nr. 1, apoi se trece 0,5 ml în tubul nr. 2, se amestecă, se trece în tubul nr. 3 0,5 ml ş.a.m.d. Din tubul nr. 5 se aruncă 0,5 ml.

Rezultate. Reacţia negativă : suspensia are acelaşi aspect, atît în tubul de reactiv, cît şi în tubul de martor.

Reacţia se consideră pozitivă dacă aglutinarea suspensiei Vi este granulară şi s-a produs cel puţin la titrul 1 : 10.

Reactivi necesari (pentru 100 de reacţii)

Cod 11 860 +) *Natrium chloratum chimic purum* . . 0,85 g
Antigen formolat tific Vi (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino") . . 5 flacoane

3. REACŢII DE FIXARE A COMPLEMENTULUI

a) *Reacţie de fixare a complementului în rickettsioze*

Reactivi : elementele care intră în reacţie se utilizează în cantitate de 0,2 ml, astfel ca volumul total să fie 1 ml.

— Ser de cercetat recoltat steril, centrifugat şi inactivat 30 de minute la 56°.

— Antigen rickettsian, produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino". Se va utiliza, conform indicaţiilor de pe eticheta flaconului, diluţia indicată avînd 4 unităţi antigenice în 0,2 ml.

— Hemolizină antioaie, special titrată pentru această reacţie. În diluţia arătată pe etichetă se găsesc 2 unităţi hemolitice în 0,2 ml hemolizină.

— Suspensie 2% hematii de oaie spălate : globulele proaspăt recoltate se spală de 3 ori cu ser fiziologic şi se readuc la volumul iniţial. Se suspendă 2 ml de globule spălate în 98 ml soluţie clorurosodică 8,5 g ‰.

— Sistemul hemolitic se prepară înainte de a fi adăugat în reacţie şi se ţine 15 minute la termostat cu 37°. Sistemul va cuprinde 0,2 ml hemolizină diluată şi 0,2 ml hematii.

Scanned with OKEN Scanner

— Alexina se titrează în aceeaşi zi în prezenţa antigenului. Diluarea alexinei se va face astfel ca 0,2 ml alexină să conţină 2 unităţi alexice. Alexina proaspăt recoltată se conservă adăugîndu-se soluţie de clorură de sodiu 28% în proporţie de 9 părţi alexină şi 1 parte soluţie salină, păstrîndu-se la frigider. Înainte de utilizare, se diluează 1 : 40, adăugîndu-se la 1 ml alexină conservată 3 ml apă distilată pentru izotonizare şi apoi 36 ml ser fiziologic. Titrarea alexinei se va face conform tabelului de mai jos.

Titrarea alexinei

Nr. tubului	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	M
Alexină 1:40	0,02	0,04	0,06	0,08	0,10	0,12	0,14	0,16	0,18	0,20	0,22	0,24	0,26	0,28	0,30	0,32	—
Ser fiziologic	0,38	0,36	0,34	0,32	0,30	0,28	0,26	0,24	0,22	0,20	0,18	0,16	0,14	0,12	0,10	0,08	0,4
Antigen-rickettsian	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Se agită şi se ţine 1 oră la 37°																	
Sistem hemolitic	0,3	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0.4	0,4	0,4	0,4	0,4
Se agită şi se ţine 1 oră la 37°																	

Titrul de lucru este cantitatea de alexină conţinută în tubul imediat superior celui în care s-a produs hemoliza totală. De exemplu: dacă s-a produs hemoliza totală în tubul nr. 14, cantitatea de lucru va fi cea din tubul nr. 15, adică 0,30 ml alexină din diluţia 1/40. Această cantitate reprezintă o unitate alexică. În R.F.C. se utilizează 2 unităţi alexice, adică 0,30 ml din diluţia 1 : 20. Fiecare tub va conţine deci $0,30 : 20 = 0,015$ alexină brută. Această cantitate se va dilua astfel ca să fie cuprinsă în 0,2 ml. Dacă avem în reacţie 80 de tuburi, va trebui să luăm $80 \times 0,015 = 1,2$ ml alexină brută. Aceasta se va dilua astfel ca în fiecare tub să avem 0,2 ml alexină. Deci alexina se va aduce la $80 \times 0,2 = 16$ ml. Pentru aceasta se va dilua de 3 ori cu apă distilată pentru izotonizare, adică $1,2 \times 3 = 3,6$ ml apă distilată, apoi se va completa la 16 ml adăugîndu-se 11,2 ml ser fiziologic. În reacţie se va lua şi un ser martor sigur negativ precum şi un ser sigur pozitiv.

Tehnică. Reacţia se va executa conform schemei de la pag. 173.

Citirea definitivă se face după 20 de ore, la 4°.

Rezultate. Hemoliză completă cu absenţa depozitului globular = reacţie negativă.

Scanned with OKEN Scanner

Schema reacției

Tub	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Ser de cercetat inactivat la 56°										
— diluție	1/4	1/8	1/16	1/32	1/64	1/128	1/256	1/512	1/1024	1/2048
— cantitate	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Antigen diluat 0,2 ml = 4 unit. antigenice	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Alexină diluată 2 ml = 2 unit. alexice	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Se agită și se incubează, la 37° o oră										
Sistem hemolitic	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4

Se agită și se ține o oră, la 37°.

Hemoliză aproape completă, depozit redus cu supernatant roșu : R.F.C. = + (slab pozitiv).

Hemoliză parțială, depozit prezent, supernatant roșu : R.F.C. = ++ (pozitiv).

Hemoliză redusă, depozit compact, supernatant ușor roz : R.F.C. = +++ (intens pozitiv).

Hemoliza absentă, depozit compact, supernatant incolor : R.F.C. = ++++ (foarte intens pozitiv).

Reacția este pozitivă din ziua a 6-a de boală, titrul crescînd progresiv pînă în ziua a 25-a. În caz de recidivă este pozitivă din ziua a 4-a și ajunge la maximum în ziua a 10-a. Titrul semnificativ pentru diagnostic este de 1 : 16 pînă la 1 : 32.

Schema martorilor pentru controlul elementelor din reacție :

Schema reacției

Tub	Martor ser de cercetat				Martor ser		M antigen	Martori hemoliză				
Ser de cercetat												
— diluție	1/4	1/8	1/16	1/32	—	—	—	—	—	—	—	—
— cantitate	0,2	0,2	0,2	0,2	—	—	—	—	—	—	—	—
Ser negativ	—	—	—	—	0,2	—	—	—	—	—	—	—
Ser pozitiv	—	—	—	—	—	0,2	—	—	—	—	—	—
Antigen diluat	—	—	—	—	0,2	0,2	0,4	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Alexină diluată	0.2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,05	0,10	0,15	0,2
Ser fiziologic	0,2	0,2	0,2	0,2	—	—	—	0,2	0,35	0,30	0,25	0,20
Se agită și se incubează 1 oră, la 37°												
Sistem hemolitic	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4	0,4

se agită și se ține 30—50 de minute, la 37°
citire definitivă după 20 de ore, la + 4°.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de reacţii)

Cod 11 860 +) *Natrium chloratum* chimic pur . . . 8,5 g
Antigen rickettsian . . . . . 2 flacoane
Ser hemolitic pt. R.F.C. rickettsia Prowazeki . . . . . 10 fiole

b) *Reacţie de fixare a complementului în leptospiroze*

Antigenul utilizat : suspensie concentrată mertiolată dintr-o tulpină nepatogenă de *leptospira biflexa Patoc*, preparat de Inst. „Dr. I. Cantacuzino".

Reacţia se execută după tehnica descrisă la R.F.C. cu antigen rickettsian.

Reactivi necesari (pentru 100 de reacţii)

Cod 11 860 +) *Natrium chloratum* chimic pur . . . 8,5 g
Antigen leptospira biflexa Patoc (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino") 8 flacoane
Ser hemolitic pentru R.F.C. cu antigen Leptospira . . . . . 10 fiole

c) *Reacţia Bordet—Wassermann*

Reactivi : serul de cercetat trebuie să fie proaspăt centrifugat şi inactivat 30 de minute la 56°.

— Antigenul Bordet-Rouelens produs de Inst. „Dr. I. Cantacuzino", care se va dilua conform prescripţiilor de pe flacon. Diluţia se va face astfel : se calculează cantitatea necesară de antigen, cunoscînd că pentru fiecare reacţie se utilizează 0,4 ml antigen diluat. A 20-a parte din această cantitate, reprezintă antigenul nediluat necesar reacţiei, cantitate care se va introduce cu o pipetă uscată într-un balon. Se adaugă cele 19 părţi de clorură de sodiu în soluţie izotonică, astfel : primul sfert din cantitatea necesară de ser fiziologic se va adăuga, picătură cu picătură, peste antigen, agitînd mereu flaconul. Restul se poate adăuga în porţiuni mai mari. Antigenul diluat se va utiliza imediat sau cel mai tîrziu la 1 oră de la diluare.

— *Sistemul hemolitic.* Se calculează întîi cantitatea necesară, ştiind că pentru fiecare reacţie sînt necesari 3 ml, se mai adaugă 9 ml pentru titrarea alexinei, 16 ml pentru martor şi 15—20 ml în plus. Globulele roşii de berbec se spală de 3 ori cu ser fiziologic steril. Supernatantul trebuie să fie clar şi trebuie să dea reacţie negativă cu acid sulfosalicilic 20%. Din sedimentul obţinut, se va face o diluţie de 1,5 ml globule în 98,5 ml ser fiziologic. Se adaugă apoi serul hemolitic antioaie. Pe fiolele de ser hemolitic este notat titrul activităţii hemolitice. În reacţie se va lua o cantitate de 4 ori mai mare. Dacă de exemplu titrul serului hemolitic este de 1 : 6 000, în reacţie se va utiliza 1 ml ser hemolitic la 1 500 ml sistem hemolitic. Avînd în vedere că hemolizina se utilizează

Scanned with OKEN Scanner

după diluarea 1/10, se va lua 10 ml hemolizină diluată la 1 500 ml sistem. Cantitatea calculată de ser hemolitic se adaugă la suspensia de globule roşii şi se ţine la termostat 60 de minute, la 37°, pentru sensibilizare.

— Alexina : se obţine din serul de cobai, amestecînd sîngele recoltat de la 3—4 cobai. Sîngele se recoltează prin puncţie cardiacă, sau prin aspiraţie cu ventuza de la baza urechii. După desprinderea cheagului, se păstrează la frigider pînă a doua zi cînd se va executa reacţia. Se centrifughează, se separă serul şi se diluează în soluţie clorurosodică izotonică 1/10, apoi se titrează după schema următoare :

Schema titrării

Nr. tubului	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Alexină diluată 1/10	0,05	0,1	0,15	0,20	0,25	0,30	0,35	0,40	—
Ser fiziologic	1,45	1,40	1,35	1,30	1,25	1,20	1,15	1,10	1,5
Sistem hemolitic	1	1	1	1	1	1	1	1	1

Incubarea la termostat, la 37°, timp de 20 de minute. Unitatea alexică utilizată în reacţia Bordet—Wassermann este dată de cantitatea imediat superioară a aceleia care a produs hemoliza completă.

Dacă de exemplu hemoliza s-a produs în tubul nr. 5, se va utiliza cantitatea din tubul nr. 6, adică 0,30 ml alexină diluată 1/10.

Schema reacţiei Bordet—Wassermann în sînge

Nr. tubului	1	2	3	4	5	6	7	8
Antigen Bordet-Rouelens diluat	0,2	0,2	—	0,2	0,2	0,4	—	—
Ser de cercetat	0,1	0,2	0,3	—	—	—	—	—
Martor sigur normal	—	—	—	0,2	—	—	—	—
Martor sigur sifilitic	—	—	—	—	0,2	—	—	—
Alexină 1/10, conf. titrului	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	—
Ser fiziologic	1	0,9	1	0,9	0,9	0,9	1,3	1,5
Se agită şi se menţine la termostat la 37°, 45 de minute								
Sistem hemolitic	1	1	1	1	1	1	1	1

Se agită şi se ţine la termostat la 37°, 10—15 minute.

Citirea se face cînd în tuburile 3, 4, 6 şi 7 se produce hemoliza totală.

Rezultate. Reacţia negativă : hemoliză în tubul 1, al 2-lea, al 3-lea.

Reacţie intens pozitivă +++ : hemoliză în tubul al 3-lea şi fixare totală în tubul 1 şi al 2-lea.

Scanned with OKEN Scanner

Reacţie pozitivă ++ : hemoliză totală în tubul al 3-lea, fixare totală în tubul 1 şi incompletă în tubul al 2-lea.

Reacţie slab pozitivă + : hemoliză în tubul al 3-lea, hemoliză aproape totală în tubul 1 şi fixare în tubul al 2-lea.

Tubul al 4-lea = martor negativ : hemoliză completă.
Tubul al 5-lea = martor pozitiv : fixare totală.
Tubul al 6-lea = martor alexină : hemoliză totală.
Tubul al 7-lea = martor sistem hemolitic : hemoliză totală.
Tubul al 8-lea = martor ser fiziologic : fixare totală.

Reactivi necesari (pentru 100 de reacţii)

Cod 11 860 +) *Natrium chloratum* chimic pur . . . 8,5 g
Antigen Bordet-Rouelens (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino") . . . 1 flacon
Ser hemolitic antioaie pentru reacţia Bordet-Wassermann (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino") . . . . 2 fiole

d) *Reacţia Bordet—Wassermann în lichidul cefalorahidian*

Tehnică. Lichidul cefalorahidian este centrifugat şi inactivat 30 de minute, la 56°.

Pregătirea şi titrarea elementelor se vor face ca şi la reacţia Bordet—Wassermann în sînge.

Schema reacţiei

Nr. tubului	1	2	3	4	5	6	7
Antigen diluat, conf. titrului	0,2	0,2	0,2	—	0,4	—	—
Lichid cefalorahidian	0,2	0,5	1	1,3	—	—	—
Alexină 1/10 conf. titrului	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2
Ser fiziologic	0,9	0,6	0,1	—	0,9	1,3	1,5
	Se ţine 45 de minute la baia de apă 37°						
Sistem hemolitic	1	1	1	1	1	1	1

Se ţine 15—20 de minute la baia de apă 37° şi se face citirea cînd în tuburile 4, 5 şi 6 se produce hemoliza.

Rezultate. Reacţia negativă : hemoliză în tuburile 1, 2, 3, 4.

Reacţia intens pozitivă +++ : hemoliză în tubul 4, fixare în tuburile 1, 2 şi 3.

Reacţia pozitivă ++ : hemoliză în tubul 1 şi 4, şi fixare în tubul al 3-lea şi al 2-lea.

Reacţie slab pozitivă + : hemoliză în tubul 1, 2 şi 4 şi hemoliză parţială în tubul 3.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de reacţii)

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	4,25 g
	Antigen Bordet-Wassermann (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino") .	1 flacon
	Hemolizină antioaie pentru reacţia Bordet-Wassermann (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino")	3 fiole

e) *Reacţia Bordet—Wassermann cu antigen cardiolipinic*

Reactivi : se utilizează antigenul cardiolipinic Behring în locul antigenului Bordet-Rouelens.

Tehnică. Antigenul se diluează conform titrului indicat pe flacon. Diluţia se va prepara adăugîndu-se picătură cu picătură antigenul peste cantitatea măsurată de ser fiziologic, agitîndu-se mereu balonul. Diluţia obişnuită este clară. În continuare se va proceda exact ca la reacţia Bordet-Wassermann cu antigen Bordet-Rouelens cu deosebirea că, după stabilirea titrului alexinei, se iau 2 unităţi şi jumătate din această cantitate.

Reactivi necesari (pentru 100 de reacţii)

Ccd 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	4,25 g
	Antigen cardiolipinic Behring	1 flacon
	Ser hemolitic antioaie (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino")	2 fiole

f) *Reacţia Levaditi—Latapie*

Tehnică. Antigenul Bordet-Rouelens se diluează conform indicaţiilor date la reacţia Bordet-Wassermann în sînge.

Suspensia de globule roşii se prepară din globule de berbec defibrinate, spălate şi resuspendate în proporţie de 2,5 ml globule în 97,5 ml ser fiziologic.

Reacţia se execută în 2 tuburi după următoarea schemă :

Schema reacţiei

Nr. tubului	1	2
Ser de bolnav neinactivat	0,2	0,2
Antigen diluat	0,2	—
Ser fiziologic	0,6	0,8
se ţine 1 oră la 37°		
Suspensie globule de berbec 2,5%	0,5	0,5

Se ţine la termostat 30 de minute.

Rezultate. Reacţie negativă : hemoliză, atît în tubul nr. 1, cît şi în tubul nr. 2.

Scanned with OKEN Scanner

Reacţie pozitivă : hemoliză în tubul nr. 2 şi lipsa totală a hemolizei în tubul nr. 1.

Reacţie parţial pozitivă : hemoliză totală în tubul nr. 2 şi hemoliză parţială în tubul nr. 1.

Autofixare : lipsă de hemoliză în ambele tuburi

Reactivi necesari (pentru 100 de reacţii)

Cod 11 860 +) *Natrium chloratum* chimic pur . . . 2,7 g
Antigen Bordet-Rouelens (produs de Inst. „Dr. I. Cantacuzino") . . . . 1 flacon

4. REACŢII DE FLOCULARE

a) *Reacţia de floculare Kahn*

Tehnică. Antigenul Kahn se va dilua conform indicaţiilor de pe flacon.

Se măsoară în 2 eprubete de 15/55 mm cantităţile de antigen Kahn şi de ser fiziologic necesare. Se amestecă turnîndu-se brusc soluţia de ser fiziologic peste antigen şi viceversa, repetînd operaţia de 5—6 ori. Se lasă amestecul în repaos 10 minute, apoi se repartizează cu o pipetă specială în 3 eprubete, după schema de mai jos.

Nr. tubului	1	2	3
Antigen Kahn diluat	0,05	0,025	0,0125
Ser de cercetat inactivat 30 de minute la 56°	0,15	0,15	0,15
Se agită în agitatorul Kahn, timp de 3 minute			
Ser fiziologic	1	0,5	0,5

Se agită cîteva secunde şi se citeşte cu ochiul liber, cu lupa sau la aglutinoscop.

Rezultate. Reacţia negativă : lichid limpede.

Reacţia intens pozitivă ++++ : precipitat net în lichidul clar.

Reacţie pozitivă +++ şi ++ : precipitat mai slab.

Reacţie slab pozitivă + : precipitat abia perceptibil.

Reactivi necesari (pentru 100 de reacţii)

Cod 11 860 +) *Natrium chloratum* chimic pur . . . 1,6 g
Antigen Kahn (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino") . . . . . 1 flacon

b) *Reacţia Citochol*

Tehnică. În reacţie se utilizează serul de bolnav, inactivat 30 de minute la 56° şi antigen citochol diluat după cum urmează : o parte

Scanned with OKEN Scanner

din antigen se diluează cu 2 părţi clorură de sodiu 3%, adăugîndu-se brusc soluţia de clorură de sodiu peste antigen. Se lasă în repaos 5 minute şi se adaugă brusc, amestecîndu-se apoi de cîteva ori, o cantitate de 9 ori mai mare decît cantitatea iniţială de antigen, de soluţie clorură de sodiu 3%. Se pune în fiecare tub de reacţie 0,2 ml ser de cercetat şi 0,2 ml antigen diluat. Se agită în agitatorul electric timp de 3 minute. Se adaugă în fiecare tub 1 ml ser fiziologic. Se agită cîteva secunde. Se citeşte imediat cu lupa sau la aglutinoscop.

Reacţia se poate executa şi cu lichidul cefalorahidian, luîndu-se 0,5 ml din acest lichid şi 0,1 ml antigen diluat.

Rezultate. Notarea reacţiei se va face după mărimea şi densitatea precipitatului din tuburi.

Reactivi necesari (pentru 100 de reacţii)

Cod 11 860 +) *Natrium chloratum* chimic pur . . . 4,25 g
Antigen Citochol (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino") . . . . . 2 ml

c) *Reacţia de clarificare Meinicke M.K.R. II.*

Tehnică. Diluarea antigenului : într-o eprubetă se repartizează 0,5 ml antigen M.K.R. şi în alta 5 ml apă sărată 3,5%. Se astupă cu dop de plută şi se pun la baia de apă la 55—56°. În această baie se aşază şi o eprubetă cu apă sărată în care se introduce un termometru pentru controlul temperaturii. Cînd termometrul de control indică temperatura de 55—56° se toarnă brusc apa sărată peste antigen. Se astupă eprubeta cu amestecul şi se mai ţine 2 minute la 55—56°. Se scoate de la baie, se amestecă cu o pipetă încălzită şi se repartizează cîte 0,2 ml ser de cercetat neinactivat şi 0,5 ml antigen diluat. Se agită şi pe păstrează la temperatura laboratorului, la întuneric şi la adăpost de praf 16—20 de ore.

Rezultate. Reacţie intens pozitivă ++++ : depozit abundent şi supernatant clar ca apa de stîncă.

Reacţie pozitivă +++ : sediment bine organizat şi supernatantul aproape complet clarificat.

Reacţie slab pozitivă ++ : depozitul de sedimentare uşor crescut, iar supernatantul cu tendinţă la clarificare.

Reacţia negativă : lichid tulbure, iar la fundul tubului se formează un mic buton caracteristic.

Reacţia se poate efectua şi cu lichidul cefalorahidian.

	Tub 1	Tub 2	Tub 3
Lichid cefalorahidian	0,5	0,2	0,1
Antigen .	0,1	0,1	0,2

Lichidul cefalorahidian nu se inactivează, antigenul M.K.R. II se diluează ca mai sus şi citirea se face după 16—18 ore.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de reacţii)

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	3,5 g
	Antigen Meinicke pentru reacţia de clarificare (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino")	1 flacon

5. ALTE REACŢII SEROLOGICE

a) *Reacţia de hemaglutinoinhibare (H.A.I.)*

Prepararea soluţiilor. Se recoltează de la 3—4 cocoşi sînge pe citrat de sodiu 3,8%, în proporţie de 1 ml citrat la 4 ml sînge. Se centrifughează, se spală cu ser fiziologic de 3 ori şi din sediment se prepară o suspensie de globule de 0,5%. Sîngele citratat de pasăre se poate păstra la frigider (+4°) cel mult o săptămînă. În lipsa sîngelui de pasăre se poate utiliza sîngele uman de grup O (I).

Se diluează 1 ml antigen cu 3 ml ser fiziologic. Se determină diluţia cea mai mare de antigen, care aglutinează complet suspensia de hematii. Această cantitate conţine o unitate hemaglutinantă.

Pentru aceasta se iau 2 serii de cite 10 tuburi de hemoliză pentru fiecare antigen în parte. În rîndul I se pune cîte 1 ml ser fiziologic, în fiecare tub. Se adaugă în eprubeta nr. 1 din rîndul întîi 1 ml antigen diluat 1/4. Se amestecă şi se trece 1 ml în tubul al 2-lea din rîndul întîi şi 0,25 ml în tubul 1 din rîndul al 2-lea ş.a.m.d. Astfel în rîndul al 2-lea vom avea cîte 0,25 ml din diluţiile din rîndul întîi. Se înlătură eprubetele din rîndul întîi. Se repartizează în eprubetele din rîndul al 2-lea cîte 0,5 ml suspensie globule roşii. Se agită şi se lasă la temperatura camerei 1 oră, pînă cînd în tubul martor s-au sedimentat complet hematiile. Sedimentul difuz, granulos, cu margini neregulate, indică aglutinarea hematiilor.

Sedimentul reprezentat printr-un mic disc roşu cu margini nete indică lipsa aglutinării.

În reacţia H.A.I. se utilizează 4 unităţi hemaglutinante.

Tehnică. Se recoltează cel puţin 2 probe de sînge, în primele 4 zile de boală şi după 14 zile. O creştere a titrului celor 2 probe, cel puţin de 4 ori, constituie un diagnostic cert de gripă. Serurile de cercetat se păstrează la +4° pînă la efectuarea reacţiei.

Se pregătesc 4 serii de cîte 10 tuburi pentru fiecare ser de cercetat. Serurile de cercetat se diluează 1:8 (0,2 ml ser + 1,4 ml ser fiziologic) şi se tratează cu periodat de potasiu. Tratarea cu periodat se face pentru distrugerea inhibitorilor nespecifici, adăugîndu-se la 10 volume ser 3 volume periodat de potasiu M/90, se amestecă, se lasă 15 minute şi se adaugă apoi glicerină 1%. Inhibitorii nespecifici se pot distruge şi prin inactivare la 56°, timp de 30 de minute.

Se pune cîte 1 ml ser fiziologic în fiecare tub din rîndul întîi, se introduce cîte 1 ml ser de cercetat diluat 1/8 în eprubeta I din rîndul nr. 1, realizîndu-se deci o diluţie 1/16, de aci se amestecă şi se trece 1 ml în tubul al 2-lea şi aşa mai departe, pînă la ultimul tub. Din tubul nr. 10 se iau cîte 0,25 ml şi se transferă în tubul al 10-lea din rîndul al 2-lea, al 3-lea şi al 4-lea. Apoi din tubul al 9-lea se transferă cîte 0,25 ml în tubul corespondent din rîndul al 2-lea, al 3-lea şi al 4-lea. Astfel se realizează 4 serii de diluţii progresive de ser, fiecare tub avînd 0,25 ml ser diluat. Se adaugă 0,25 ml antigen (4 doze hemaglutinante). Se adaugă apoi 0,5 ml suspensie globule 0,5%. Se lasă la temperatura camerei 60 de minute şi se citeşte reacţia.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de reacţii)

Antigene gripale de tip pentru hemaglutinoinhibare . . . . . 20 de flacoane
Soluţie clorurosodică izotonică . . . . . 500 ml

b) *Reacţia pentru punerea în evidenţă a antistreptolizinelor A.S.L.O.*

Prepararea soluţiilor. Serul de cercetat nehemolizat se inactivează 30 de minute la 56°.

Se prepară o suspensie de hematii de iepure defibrinate, spălate de 2—3 ori cu ser fiziologic, readuse la volum şi suspendate 5% în ser fiziologic.

Se prepară o soluţie tampon formată din natriu clorat 4,2 g, fosfat monopotasic 3,17 g, fosfat disodic+12 H_2O 3,58 g la un volum de 1 000 ml apă distilată. Se adaugă la această soluţie 1,6 g natriu hidroxid (circa 40 ml natriu hidroxid, soluţie normală), ajustîndu-se pH=8,2. Se păstrează la +4° mai multă vreme.

Streptolizina O, se utilizează diluîndu-se conform indicaţiilor de pe fiolă, apoi se va reduce cu cisteină tamponată în proporţie de 0,15 cisteină în 25 ml tampon. În fiecare tub de reacţie se va adăuga o unitate combinată de streptolizină diluată conform indicaţiilor de pe fiolă şi cantitatea de cisteină-tampon, pînă la completarea volumului de 0,5 ml.

Tehnică. Se fac 3 diluţii din serul de cercetat.
Diluţia 1/10 : 1 ml ser + 9 ml ser fiziologic.
Diluţia 1/100 : 1 ml ser 1/10 + 9 ml ser fiziologic.
Diluţia 1/500 : 1 ml ser 1/100 + 4 ml ser fiziologic.
Din aceste diluţii se repartizează în reacţie după schema de mai jos, pornind de la diluţia 1/500 către 1/10.

Schema reacţiei

Diluţie ser	1/10		1/100					1/500				
Ser de cercetat	0,8	0,2	1	0,8	0,6	0,4	0,3	1	0,8	0,6	0,4	0,2
Ser fiziologic	0,2	0,8	—	0,2	0,4	0,6	0,7	—	0,2	0,4	0,6	0,8
Lizină redusă cu cisteină	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Se ţine 15 minute la 37°												
Hematii de iepure 5%	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5
Se ţine 45 de minute la 37°. Se face o primă citire şi se ţine apoi 18 ore la +4°, după care se face citirea definitivă.												
Unităţi A.S.L.O.	12	50	100	125	166	250	333	500	625	833	1 250	2 500

Observaţie : amestecul de cisteină tampon cu soluţie lizină se lasă în contact 10 minute pentru reducere înainte de repartizarea în reacţie.

Exemplu de calcul pentru 10 probe de sînge :

Numărul de tuburi necesare = 10×12=120 de tuburi. Se calculează celelalte elemente pentru 150 de tuburi.

Scanned with OKEN Scanner

Suspensia de hematii: 150×0,5=75 ml
Dacă la 100 ml suspensie . . . . . 5 ml globule
la 75 ml suspensie . . . . . x ml globule
x= (75×5) : 100=3,75 ml hematii spălate şi readuse la volumul iniţial.

Lizina: Dacă unitatea combinantă specificată pe fiolă este de 0,2 ml din diluţia 1/8, pentru 150 de tuburi vom avea nevoie de 150×0,2=30 ml lizină diluată 1/8.

Pentru a afla cantitatea de lizină nediluată, împărţim pe 30 la 8=3,75 ml lizină nediluată.

Aceasta se va dilua cu 26,25 ml ser fiziologic, pentru a avea cantitatea de 30 ml necesară în reacţie.

Lizina va fi redusă cu cisteina dizolvată în soluţia tampon.

Cantitatea de tampon necesară este de 150×0,3=45 ml.

La această cantitate se va adăuga 0,6% cisteină.

Dacă la 100 ml tampon . . . . 0,6 g cisteină
la 45 ml tampon . . . . . x g cisteină
x= (45×0,6) : 100=0,27 g cisteină

Citirea rezultatelor se face după scoaterea de la termostat şi după 17 ore de menţinere la + 4°C.

Rezultate. Titrurile normale au valori pînă la 166—250 de unităţi A.SL.O. pe mililitru.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 6 107	*Cysteinum hidrochloricum purum* . .	3 g
Cod 9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	2 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	11 g
Cod 12 217 A	*Natrium phosphoricum bibasicum* p. a.	2 g
	Streptolizina O (preparat de Istitutul „Dr. I. Cantacuzino“)	30 de fiole

IV. DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIC

1. DIAGNOSTICUL INFECŢIILOR PRODUSE DE COCII GRAM-POZITIVI

a) *Infecţiile produse de stafilococ*

Produse de examinat. Sînge pentru hemocultură, puroi recoltat cu tampoane sterile, puroi extras prin puncţie, exsudate rinofaringiene, alimente, conţinut gastric, materii fecale, fragmente de organe recoltate de la cadavre etc.

Tehnică. Examenul se efectuează după următoarea schemă:

Ziua I

Sînge pentru hemocultură: se recoltează 10 ml sînge şi se însămînţează în bulion-sînge. Se recomandă efectuarea a două hemoculturi,

Scanned with OKEN Scanner

una pentru a fi incubată în mediul anaerob, iar alta pentru a fi incubată în mediul aerob. În cazul în care bolnavul este sub tratament cu antibiotice, se adaugă în balonul cu mediu, următoarele substanțe :

— pentru inactivarea penicilinei, se adaugă 2—3 ml penicilinază (filtrat de bacilii coli din cultură în bulion de 7 zile) ;

— pentru streptomicină se adaugă 5—6 mg cisteină ;

— pentru sulfamide se adaugă acid paraaminobenzoic în diluție de 1/100 000.

După 24 de ore, hemoculturile se examinează vizual și prin treceri pe geloză sînge.

Hemoculturile negative se urmăresc timp de 6 zile.

Puroiul extras din puncție precum și celelalte produse amintite se examinează după cum urmează :

Se efectuează frotiuri colorate Gram, Ziehl, Neelson și May-Grünwald-Giemsa, pentru diferențierea de fusospirili, difterici, streptococi, bacilii Koch și pentru cercetarea citologiei.

Însămînțări pe geloză sînge în mediul aerob și anaerob.

Însămînțări pe mediul de îmbogățire hiperclorurat : se diluează mediul hiperclorurat cu apă distilată și se introduce tamponul cu produsul de cercetat, în mediul astfel pregătit.

Ziua a II-a

— *Examinarea culturilor din ziua întîi și notarea aspectului coloniilor, precum și a proprietăților morfologice și tinctoriale.*

— Trecerea coloniilor izolate pe bulion-sînge pe mediul hiperclorurat solid și pe geloză înclinată.

Ziua a III-a

Cercetarea caracterelor de patogenitate

Cercetarea pigmentogenezei, la culturile însămînțate pe geloză înclinată, incubate la 22°, 25° și 37°. Dacă după 24 de ore nu s-a produs pigment, culturile se vor urmări timp de 48 de ore.

Cercetarea hemolizinelor se testează pe geloză 2% cu sînge 5%. Apar hemolizine de tip alfa și beta.

Cercetarea fibrinolizinelor : testarea se face pe geloză 2% topită și răcită la 50°, la care se adaugă plasmă oxalatată în proporție de 1:7. În jurul coloniilor producătoare de fibrinoliză se constată o zonă mai clară.

Testarea coagulazei : se ia într-un tub 0,3 ml plasmă oxalatată de om sau iepure, la care se adaugă 0,2 ml cultură de stafilococ în bulion de 24 de ore. Se pregătește și un martor cu ser fiziologic. Se incubează la 37°, timp de 4 ore, citindu-se la fiecare 30 de minute. Testul este pozitiv dacă apare o coagulare vizibilă.

Cercetarea enterotoxinei : testul Dolman. Se filtrează prin filtru Seitz, o cultură de 48 de ore de stafilococ. Filtratul se încălzește la fierbere, 20—30 de minute. Enterotoxina fiind rezistentă la fierbere rămîne activă, în timp ce restul de fracțiuni toxice se inactivează. Se centrifughează, iar supernatantul se inoculează intraperitoneal la pisoi de

Scanned with OKEN Scanner

350—750 g, în doze de 1—3 ml/kilocorp. După 15—60 de minute de la inoculare apar fenomene toxice care se manifestă prin somnolenţă, neliniște, sialoree, vărsături, diaree, contracturi abdominale ș.a.

Efectuarea antibiogramei.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 237	*Acid para aminobenzoicum* p. a. . . .	0,10 g
Cod 6 107	*Cysteinum hidrocloricum purum* . . .	1 g
	Bulion simplu	15 kg
	Penicilinază	200 ml
	Materiale pentru 200 de coloraţii Gram	
	Materiale pentru 100 de coloraţii Giemsa	
	Materiale pentru 100 de coloraţii Ziehl-Neelsen	
	Geloză sînge	2 000 ml
	Mediul Chapman lichid	1 000 ml
	Mediul Chapman solid	2 000 ml
	Material pentru 100 de antibiograme	

b) *Diagnosticul infecţiilor cu streptococ*

Produse de examinat: secreţii amigdaliene, nazale, vaginale, recoltate pe tampoane.

— Lichid cefalorahidian, spută, urină, puroi, lichide de puncţie, recoltate în eprubete sterile.

— Sînge pentru hemoculturi.

Ziua I

Se efectuează frotiuri colorate Gram, Ziehl, Neelsen şi May—Grünwald—Giemsa.

Se însămînţează pe mediul Picke de îmbogăţire, pe geloză-sînge în 2 straturi, în bulion sînge, în bulion ascită sau ser.

Însămînţarea în geloză-sînge în 2 straturi se face astfel: se face o însămînţare obişnuită pe geloză-sînge, după care se mai toarnă un strat de geloză topită şi răcită la 45° pentru crearea condiţiilor de anaerobioză.

Efectuarea hemoculturilor.

Ziua a II-a

Citirea plăcilor din ziua I, cercetarea caracterelor de cultură, morfologice şi tinctoriale.

Treceri din bulion Picke pe geloza-sînge pentru confirmare.

Trecerea coloniilor hemolitice pe bulion glucozat 2%.

Ziua a III-a

Confirmarea pe geloză-sînge a culturilor din ziua a II-a.

Din bulion glucozat se prepară extractul pentru determinarea de grup.

Trecerea în bulion glucozat pentru determinări de tip şi pentru efectuarea antibiogramei.

Efectuarea reacţiilor de precipitare.

Scanned with OKEN Scanner

Ziua a IV-a

Citirea plăcilor de confirmare.

Citirea reacţiei de precipitare.

Determinarea de tip prin aglutinare pe lamă.

Efectuarea reacţiei de precipitare pentru diagnosticul de grup.

Tehnică. Cultura de streptococ în bulion glucozat 2%, veche de 18—24 de ore, se centrifughează şi se îndepărtează supernatantul. Peste depozitul obţinut se adaugă 0,5 ml acid clorhidric N/5 în soluţie ser fiziologic 0,5‰. Se introduc tuburile în baie de apă clocotită şi se fierb 10 minute. Se răcesc la apă curentă, se centrifughează şi se decantează într-un tub de hemoliză. Se neutralizează cu hidroxid de sodiu N/5 în prezenţa albastrului de bromtimol, pînă la culoare verde-albăstruie. Se centrifughează. Supernatantul reprezintă extractul de grup, cu care se efectuează reacţia de precipitare.

Într-un tub de precipitare se iau : 0,2 ml extract + 0,1 ml ser precipitant (grup A, C şi G produse de Inst. „Dr. I. Cantacuzino").

După 15—20 de minute apare inelul de precipitare. Se incubează 2 ore la termostat 37°, apoi 17 ore la + 4°. Citirea definitivă se face după 24 de ore. Precipitatul se depune la fundul eprubetei. Se agită. După cantitatea şi mărimea grunjilor se notează intensitatea reacţiei.

Reacţia în tuburi capilare. Se absoarbe în capilarul pipetei Pasteur, o coloană de 2—3 cm ser precipitant şi în continuare se absoarbe o coloană egală de extract microbian. Se implantează capilarul în plastilină. Citirea după 15 minute, apoi incubare 2 ore la termostat şi 17 ore la frigider.

Reacţia de aglutinare pentru identificarea tipului. Se execută cu ser aglutinant de tip şi cultură microbiană din bulion glucozat, prin aglutinare pe lamă.

Diagnostic serologic. Efectuarea reacţiei pentru punerea în evidenţă a antistreptolizinelor O.

Reacţii biologice. Reacţia Dick şi fenomenul Schultz—Charlton.

Proba cu bacitracină. Cultura de streptococ se însămînţează bogat pe 1/4 placă cu geloză-sînge. În mijlocul zonei însămînţate, se pune o rondelă îmbibată într-o soluţie bacitracină de 5 unităţi pe mililitru şi se incubează la 37°. Bacitracina inhibează creşterea streptococilor din grupa A şi nu are acţiune asupra grupelor C şi G.

Proba catalazei. Tulpinile de streptococ nu produc catalază. La suprafaţa unei culturi pe geloză ser, se adaugă cîteva picături de apă oxigenată 10%. Prezenţa catalazei se traduce prin producerea abundentă de gaz. În cazul streptococului nu se produce gaz.

Creşterea în geloză cu bilă 40% este caracteristică pentru enterococi, streptococul lactic şi unele tulpini de streptococ viridans.

Efectuarea antibiogramei.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 3 700	*Bacitracinum R. purum*	0,10 g
Cod 8 858	*Hydrogenum peroxydatum 30% purum*	100 g
	Bulion Picke	2 000 ml
	Geloză 3%	4 000 ml
	Bulion lactozat cu ser	2 000 ml

Scanned with OKEN Scanner

Mediu Chabert	1 000 ml
Material pentru 100 de colorații Gram	
Material pentru 100 de colorații Ziehl-Neelsen	
Material pentru 100 de colorații May-Grünwald-Giemsa	
Material pentru 100 de antibiograme	
Ser precipitant A antistreptococic . .	100 de fiole
Ser precipitant C antistreptococic . .	100 de fiole
Seruri aglutinante de tip antistreptococic	1 serie

c) *Diagnosticul infecțiilor pneumococice*

Produse de examinat: spută, exsudat faringian, secreție nazală, lichid pleural ș.a.

Ziua I

Examenul direct în frotiu colorat cu albastru de metilen și coloarația Gram.

Examen în preparat nativ, pentru diagnosticarea tipului de pneumococ prin reacția de umflare a capsulei.

Tehnică. Pe o lamă de sticlă se depune o picătură din sputa de cercetat, o picătură de ser antipneumococic de grup și o picătură de soluție de albastru de metilen. Se amestecă cele trei picături și se acoperă cu o lamelă. Reacția se practică cu toate serurile de grup. Față de serul omolog, germenii prezintă fenomenul de aglutinare, producîndu-se totodată umflarea capsulei. Dacă germenul face parte din grupul al 4-lea, atunci se efectuează aglutinarea cu amestecul de seruri de tip, și cu seruri izolate de tip, pînă se găsește serul corespunzător.

Izolarea preumococilor prin inoculare la șoarece: 0,5 ml din materialul de inoculat diluat în 2 ml ser fiziologic steril se inoculează subcutanat sau intraperitoneal la șoareci albi de 16—20 g. Dacă produsul conține pneumococi, animalul sucombă în 24 de ore. Se autopsiază, se practică hemocultura din inimă, se fac colorații din secreția peritoneală și din organe. Se practică reacția de umflare a capsulei din lichidul peritoneal.

Însămînțarea produselor de cercetat pe bulion-sînge, geloză-sînge și bulion T.

Ziua a II-a

Se fac însămînțări din organele recoltate de la șoareci (hemocultură, secreție peritoneală, splină, ficat) pe geloză-sînge și bulion T.

Se examinează culturile din ziua I.

Se practică reacția de umflare a capsulei la culturile din ziua I.

Se practică reacția de biloliză pentru diferențierea de streptococi.

Tehnică. Se repartizează în 2 eprubete cîte 1 ml cultură. La una din eprubete se adaugă 1 ml bilă de bou, sau soluție de săruri biliare 10%.

Scanned with OKEN Scanner

iar în tubul martor se adaugă ser fiziologic. În timp de 30 de minute, tubul în care am adăugat bila se clarifică.

Fermentarea inulinei: se fac treceri de pe bulionul T în mediul pentru fermentarea zahărului cu inulină. Se incubează la 37°. În prezența pneumococului mediul coagulează și-și modifică culoarea.

Reacția de aglutinare. Depozitul centrifugat al culturii în bulion se resuspendă în ser fiziologic steril. Serurile de testat se diluează pînă la limita titrului. Se adaugă în fiecare tub 2 picături de emulsie microbiană. Se incubează la termostat 2 ore.

Efectuarea antibiogramei.

Ziua a III-a

— Examinarea trecerilor din ziua a II-a și identificarea acestor culturi.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 9 270	*Inulinum* p. a.	1 g
	Mediul Truche lichid	2 000 ml
	Geloză-sînge	2 000 ml
	Materiale pentru 100 de antibiograme	
	Seruri aglutinante de grup (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino“ . .	100 de fiole
	Seruri aglutinante de tip, antipneumococice (produs de Institutul „Dr. I Cantacuzino“	10 serii
	Bulion pentru fermentarea zaharurilor	1 000 ml
	Material pentru 100 de colorații Gram	
	Material pentru 100 de colorații albastru de metilen	
	Săruri biliare nr. 3	100 g

d) *Diagnosticul infecțiilor produse de meningococ*

Produse de examinat. Sînge pentru hemocultură, lichid cefalorahidian, exsudat faringian, secreție nazală.

Ziua I

Se însămînțează hemocultura, în bulion-ser sau bulion-ascită, și se incubează în atmosferă de bioxid de carbon 10%. Se fac treceri după 24 de ore pe geloză-sînge, geloză, șocolată, geloză-ser sau geloză-ascită.

Lichidul cefalorahidian. Se notează aspectul, se cercetează citologia, conținutul în albumine, globuline, glucoză și cloruri. Se fac frotiuri colorate Gram și albastru de metilen din sediment. Se însămînțează sedimentul sau chiar lichidul necentrifugat, pe medii încălzite la 37°. Se recomandă însămînțarea la patul bolnavului imediat după puncție.

Dacă lichidul cefalorahidian este bogat în germeni, se practică imediat reacția de umflare a capsulei și reacția de precipitare direct din lichidul cefalorahidian.

Tehnică: 0,5 ml lichid cefalorahidian + 0,5 ml ser antimeningococic polivalent, se țin 2 ore la 37° și 24 de ore la frigider. Apare un inel de precipitare.

Scanned with OKEN Scanner

Se inoculează lichidul cefalorahidian intraperitoneal la şoarece, iar după 2 ore se recoltează exsudat peritoneal din care se efectuează reacţia de umflare a capsulei.

Ziua a II-a

Se examinează aspectul culturilor din ziua I, se cercetează caracterele morfologice şi tinctoriale.

Se efectuează antibiograma.

Se efectuează reacţia de aglutinare : din culturile de pe agar-ascită se face o suspensie de 1 miliard germeni pe mililitru. Se fac diluţii din serurile de tip pînă la limita titrului specificat pe fiolă, în volum de 0,5 ml. Se adaugă 0,5 ml antigen în fiecare tub. Se incubează 2 ore la termostat.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Bulion-ascită	1 000 ml
Geloză-sînge	2 000 ml
Geloză-şocolată	2 000 ml
Ser polivalent antimeningococic (produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino“)	100 de fiole
Ser antimeningococic de tip	10 serii
Material pentru 100 de antibiograme	
Material pentru 100 de coloraţii Gram	

e) *Diagnosticul infecţiilor cu gonococ*

Produse de examinat : puroi din secreţia uretrală la bărbat, iar la femei secreţie uretrală, secreţie vaginală, secreţie de la colul uterin şi de la glandele Bartolin.

Ziua I

Se efectuează frotiuri colorate Gram şi cu albastru de metilen, din secreţiile recoltate.

Se efectuează însămînţări pe mediile de cultură. Acestea se fac dimineaţa, înainte de micţiune şi înainte de începerea tratamentului. Se recoltează pe mediul de transport Moffet, Young şi Stuart, apoi se incubează în atmosferă de bioxid de carbon 10%.

Însămînţare pe mediul Peitzer şi Steffen. Culturile se ţin la termostat 24 de ore în atmosferă de bioxid de carbon, apoi încă 24 de ore în condiţii normale.

Ziua a II-a

Examinarea culturilor din ziua I, treceri pe geloză-şocolată, geloză-sînge, ser-ascită. Trecere în bulion-ascită.

Ziua a III-a

Examinarea culturilor din ziua a II-a.

Efectuarea testului oxidazelor : Gordon şi Mac Leod.

Tehnică. Se toarnă soluţie apoasă de tetrametilen-parafenilen-diamină 1% pe suprafaţa coloniilor crescute pe mediul de cultură. Coloniile de gonococi capătă culoare roşie purpurie, apoi violetă şi după 30 de minute se înnegresc. Coloniile roşii se repică imediat pe geloza-ascită.

Scanned with OKEN Scanner

Fermentarea zahărurilor

Neisseria	Glucoză	Maltoză	Zaharoză
intracelularis	Acid	—	—
gonorrheae	Acid	Acid	—
catarrhalis	—	—	—

Hemoculturile se însămînţează pe bulion-ascită sau bulion-ser şi se incubează în atmosferă de bioxid de carbon. *Diagnosticul serologic:* în laboratoare de specialitate se poate practica şi R.F.C.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Mediul Moffet . . . . . 1 000 ml
Mediul Steffen şi Peitzer . . . . . 1 000 ml
Geloză-şocolată . . . . . 2 000 ml
Geloză-ser . . . . . 1 000 ml
Bulion-ser . . . . . 1 000 ml
Material pentru 100 de antibiograme.
Material pentru 300 de coloraţii Gram
Material pentru 300 de coloraţii cu albastru de metilen

2. DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL ENTEROBACTERIACEELOR

a) *Diagnosticul şi clasificarea enterobacteriaceelor*

Se face pe baza caracterelor de dezvoltare pe mediile de cultură, a caracterelor biochimice, biologice şi serologice.

Redăm mai jos un tabel privitor la recunoaşterea grupului enterobacteriaceelor după caracterele de dezvoltare pe mediul agar tripiu zahăr Kligler şi mediul Gabrielli pentru mobilitate, indol, uree.

Grupul	Mediul triplu zahăr			Mediul Gabrielli		
	Glucoza	Lactoza sau Sucroza	H_2S	Mobilitate	Indol	Uree
Salmonella sau *Arizona*	AG	—	+	+	—	—
Salmonella typhi	A	—	+	+	—	—
Citrobacter	AG	d	+	+	—	—
Shigella	A	—	—	—	d	—
Escherichia	AG	+	—	d	+	—
Klebsiella sau *Cloaca*	AG	+	—	d	—	d
Serratia	A sau AG	+	—	+	—	—
Proteus	AG	d	+	+	d	+
Retgerella	A	—	—	+	—	+
Morganella	AG	—	—	+	+	+
Providence	A sau AG	—	—	+	+	—

AG = acid şi gaz ; A = acid ;
+ = pozitiv în 1—2 zile ;
— = negativ la 30 de zile ;
d = diferite reacţii ; pozitivă sau negativă.

Scanned with OKEN Scanner

Pentru o determinare mai precisă a grupelor şi tipurilor de enterobacteriacee se va face şi studiul comportării acestora faţă de anumite zaharuri şi alte reacţii biochimice care se evidenţiază în timpul cultivării lor pe mediile de cultură speciale.

Comportarea biochimică a grupurilor familiei Enterobacteriaceelor

Faţă de	Salmonella	Arizona	Citrobacter	Shigella	Grup A-D	Escherichia	Klebsiella	Cloaca	Hafnia	Serratia	Proteus	Retgerella	Morganella	Providence
Glucoza	+	+	+	—	—	+	+	+	+	+	+	—	+	d
Gaz-lactoză	—	+ (×)	d	×	×	+	+	+	—	×	—	—	—	—
Zaharoză	—	—	d	d	d	d	+	+	×	+	d	—	—	d
Manitol	+	+	+	d	+	+	+	+	+	+	—	+	—	—
Dulcită	+	—	d	d	+	d	d	d	—	—	—	—	—	—
Salicină	—	—	d	—	d	d	+	+	d	+	d	d	—	d
Adonitol	—	—	—	—	—	—	d	d	—	d	—	+	—	d
Inozitol	d	—	×	—	—	—	+	d	—	—	—	+	—	—
Cerobioză	×	×	d	—	×	—	+	+	×	—	×	—	—	—
Ranoză	+	+	+	d	+	+	+	+	+	—	—	d	—	—
Rafinoză	—	—	—	×	d	d	+	+	—	d	—	—	—	—
Arabinoză	d	+	+	d	+	+	+	+	+	d	—	—	—	—
Xiloză	+	+	+	×	+	+	+	+	+	d	+	—	—	—
Sorbitol	+	+	+	d	+	+	+	+	—	d	—	—	—	—
Indol	—	—	—	d	+	+	d	—	—	—	d	+	+	+
Roşu metil	+	+	+	+	+	+	d	—	—	—	+	d	+	+
Foges-Proskauer	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	d	—	—	—
Citrat	+	+	+	—	—	—	+	+	+	+	d	+	—	+
H_2S	+	+	+	—	—	—	—	—	(+)	—	+	—	(+)	—
Ureea	—	—	—	—	—	—	+	—	—	—	+	+	+	—
Gelatina	—	(+)	—	—	—	—	d	d	—	+	+	—	—	—
Creştere în K.C.N.	—	—	+	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
Malonat	—	+	d	—	—	—	+	d	+	—	—	—	—	—
Fenil alanină	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+
Arginin dehidrogenază	+	+	d	d	d	d	—	d	×	—	—	—	—	+
Ornitin decarboxilază	+	+	d	d	d	d	—	+	+	d	d	—	+	—
Glutamic acid decarboxilază	—	—	—	+	+	+	—	—	—	—	×	d	+	d
Lizin decarboxilază	+	+	—	×	+	+	+	d	+	d	—	—	(+)	—
Mobilitate	+	+	+	—	—	d	—	+	+	+	+	+	+	+

+ = pozitiv 1—2 zile ;
— = negativ la 30 de zile ;
(+) = pozitiv cu întîrziere ;
x = negativ sau neregulat slab pozitiv ;
d = reacţie diferită (pozitivă sau negativă).

Tehnica de lucru pentru identificarea enterobacteriaceelor.

Produse de examinat : sîngele : (hemocultură) ; fecale (coprocultură) ; urina (urocultură) ; bilă (bilicultură) ; probe alimentare ; probe recoltate de la cadavre.

Ziua I

Hemocultură : însămînţare în bulion glucozat sau bulion biliat.

Medulocultură : se însămînţează 2—3 ml. produs în bulion glucozat şi bulion biliat.

Scanned with OKEN Scanner

Coprocultura şi urocultura : însămînţare directă pe agar dezoxicolat, Wilson-Blair, Istrate-Meittert, S.S., Kristensen şi agar-lactoză-albastru de bromtimol.

Însămînţare pe medii de îmbogăţire.

Müller—Kauffmann şi mediul Selenit.

Ziua a II-a

Se fac treceri pe geloză simplă, pe Istrate-Meittert şi pe S.S., din hemocultură şi medulocultură.

Se trec coloniile suspecte de pe mediile solide însămînţate în ziua I pe agar-lactoză-albastru de bromtimol şi geloză înclinată.

Se fac treceri de pe mediile de îmbogăţire pe Kristensen, pe S.S. şi Istrate-Meittert.

Ziua a III-a

Se fac aglutinări pe lamă din trecerile din zilele anterioare şi se fac treceri pentru cercetarea reacţiilor biochimice.

Coloniile suspecte, care nu au modificat albastru de bromtimol, se trec în tuburi de fermentare pentru glucoză, lactoză, sucroză şi manitol.

Se fac treceri pe apă peptonată şi geloză simplă.

Se fac reizolări de colonii suspecte pe S.S. şi agar-lactoză-albastru de bromtimol.

Ziua a IV-a

Coloniile care fermentează glucoza, manitolul şi cu producere de gaz şi cele lactozo-, sucrozo-, indolnegative şi H_2S pozitive se aglutinează cu ser polivalent pentru salmonele. Dacă aglutinarea este pozitivă. germenul este probabil o salmonelă. Urmează identificare serologică şi teste biochimice complete.

Dacă aglutinarea este negativă, probabil germenul este din grupul arizona sau citrobacter.

Urmează teste serologice şi biochimice complete.

Coloniile glucozo-, acid-, lactozonegative şi H_2S negative se aglutinează cu serul polivalent shigella. Dacă aglutinează cu acest ser se face identificarea serologică şi teste biochimice pentru shigella.

Dacă nu aglutinează, germenul face parte din grupul providencia sau grup A.D., urmînd a se efectua teste serologice şi biochimice pentru acest grup.

Se va face testarea sensibilităţii germenului la antibiotice.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Geloză simplă 2% pH=7,6	2 000 g
Geloză lactoză cu albastru de metilen L.A.B.	2 000 g
Mediu cu bilă Istrate-Meittert (I.M.)	2 000 g
Mediu Kristensen-Lester Jurgens (K.L.J.)	2 000 g
Mediu agar dezoxicolat Leifson (A.D.)	2 000 g
Mediu S.S.	2 000 g
Mediu triplu zahăr Klinger (T.S.I.)	2 000 g
Mediu Gabrielii (M.I.U.)	2 000 g
Mediu Wilson-Blair (W.B.)	2 000 g
Mediu Levine (L.)	2 000 g
Mediu Müller-Kauffmann (M.K.)	2 000 g
Mediu Selenit (M.S.)	2 000 g

Scanned with OKEN Scanner

Medii şi reactivi pentru testul de fermentare a glucidelor . . . . . 2 000 g
Mediu pentru producerea indolului . . . . . 1 000 g
Medii şi reactivi pentru producerea hidrogenului sulfurat . . . . . 1 000 g
Medii şi reactivi pentru reacţia roşu de metil . . . 1 000 g
Mediu şi reactivi pentru reacţia Voges-Proskauer pentru . . . . . 100 de testări
Medii pentru utilizarea citratului Coser pentru . . 100 de testări
Medii pentru testul de inhibiţie cu K.C.N. pentru . 100 de testări
Medii şi reactivi pentru reducerea nitraţilor pentru 100 de testări
Medii şi reactivi pentru testul ureazei pentru . . . 100 de testări
Medii şi reactivi pentru testul decarboxilazei pentru 100 de testări
Medii şi reactivi pentru lichefierea gelatinei pentru 100 de testări
Medii şi reactivi pentru reacţia Stern pentru . . . 100 de testări
Medii şi reactivi pentru testul cu malonat pentru . 100 de testări

Seruri aglutinante :

Salmonela polivalent şi de tip . . . . . 2 serii
Shigela polivalent şi de tip . . . . . 2 serii
Anticoli patogeni polivalent şi de tip . . . . . 2 serii
Suspensii alcoolate şi formolate pentru reacţia Widal şi Vi pentru . . . . . 100 de testări

Coloranţi :

Pentru metoda Gram pentru . . . . . 200 de colorăţii
Pentru coloraţia cililor pentru . . . . . 100 de colorăţii

b) *Diagnosticul bacteriologic al salmonelozelor*

Din grupul *Salmonella* fac parte bacili Gram-negativi de 2—3/0,6 microni, mobili, cu cili peritrichi, necapsulaţi, nesporulaţi, care cresc uşor pe mediile de cultură aerobe, fiind şi anaerobi facultativi. Bila favorizează creşterea acestor germeni, iar pH-ul optim de dezvoltare de 7,2—7,6, la 37°.

Caracterele biochimice ale tipurilor de salmonela sînt indicate în schema lui Kauffmann, pe care o redăm mai jos.

	Arabinoza	Dulcita	Inozita	Ramnoza	Trehaloza	Xiloza	R. Stern	H_2S	Gelatina	Citrat
S. parathyphi A.	+	(+)	—	+	+	—	—	d	—	—
S. parathyphi B,	+	d	d	d	+	+	d	+	—	—
S. parathyphi C.	d	+	—	(+)	(+)	+	—	+	—	+
S. cholerae suis	—	×	—	+	—	+	—	d	—	—
S. Kunzendorf	—	×	—	+	—	+	—	+	—	+
S. Sendai	+	×	+	—	(+)	+	(+)	—	—	—
S. typhi	d	×	—	—	+	d	—	d	—	d
S. enteritidis	+	+	—	+	+	+	+	+	—	+

+ = pozitiv în 1–2 zile ;
— = negativ la 30 de zile ;
(+) = pozitiv cu întîrziere ;
× = negativ sau neregulat slab pozitiv ;
d = reacţie diferită, pozitivă sau negativă.

Scanned with OKEN Scanner

Salmonelele au o structură antigenică complexă, prezentînd antigene specifice de tip şi de grup O şi H. Pe baza fracţiunilor antigenice, Kauffmann şi White au stabilit formule antigenice specifice pentru fiecare specie.

Redăm mai jos compoziţia antigenică a cîtorva tipuri de salmonele.

Tip	Antigen somatic	Antigen flagelar	
		Faza I	Faza a 2-a
S. parathyphi A	1, 2, 12	a	—
S. parathyphi B	1, 4, 5, 12	b	1,2
S. typhi murium	1, 4, 5, 12	i	1,2
S. parathyphi C	6, 7, Vi	c	1,5
S. typhi	9, 12, Vi	d	—
S. enteritidis	1, 9, 12	g.m.	—

Produc la om şi la animalele receptive infecţii tifoparatifice şi toxiinfecţii alimentare.

Diagnosticul bacteriologic. Hemocultura este pozitivă 90% în săptămîna I şi 40% în săptămîna a III-a şi a IV-a.

Medulocultura are acelaşi procent de pozitivitate ca şi hemocultura.

Coprocultura pozitivă 60% în săptămîna I, şi 80% în săptămîna a IV-a.

Urocultura pozitivă din săptămîna a doua la 30% din bolnavi.

De la convalescenţi şi purtători se examinează coprocultura, urocultura şi bilicultura.

Se fac suspensii din probele recoltate de la cadavre, care se însămînţează pe mediile de cultură.

Se fac examene de produse alimentare.

Din culturile obţinute se fac identificări prin cultivare pe medii speciale pentru testarea reacţiilor biochimice şi reacţii serologice de aglutinare pe lamă şi în tuburi.

Se efectuează antibiograma.

Diagnosticul serologic. Se efectuează reacţia Widal calitativă şi reacţia de aglutinare Vi.

Examene biologice. Se efectuează sensibilitatea faţă de bacteriofagi.

Redăm schema de lucru pentru izolarea şi identificarea germenilor din grupa salmonela.

Ziua I

Se efectuează hemoculturile şi medulocultur ile.

Se face o suspensie de fecale 1/10 sau din lichidul de conservare şi se însămînţează pe mediul Selenit, Müller—Kauffmann şi Wilson—Blair.

Ziua a II-a

Se fac treceri pe medii cu lactoză și albastru de bromtimol și pe mediul dezoxicolat citratat lactozat.

Ziua a III-a

Se citesc plăcile însămînțate in zilele anterioare.

Pe mediul Wilson—Blair : salmonelele formează colonii negre cu luciu metalic și halo metalic în jur ; aceste colonii sînt negre și în profunzimea mediului.

B. coli dă colonii negre la suprafață și cafenii în profunzime.

B. proteus și pseudomonas dau colonii negre numai la suprafață.

Pe mediile cu lactoză :

— salmonelele sînt lactozonegative împreună cu citrobacter, freundi, cloaca, hafnia, piocianic, paracoli, proteus și shigela.

— coloniile de bacili coli, colonii de *sh. sonnei* (uneori după 8 zile) și klebsiela sînt lactozopozitive.

Pe geloză lactozată cu albastru de bromtimol, salmonelele dau colonii verzi-albăstrui, iar shigela verzi.

Se fac treceri din coloniile suspecte pe mediile cu bilă și pe geloză înclinată.

Ziua a IV-a

Se aglutinează coloniile suspecte pe lamă.

Se fac treceri și însămînțări pentru probele biochimice.

Se fac însămînțări pentru studiul motilității.

Ziua a V-a

Se citesc probele biochimice.

Se efectuează eventual aglutinări în tuburi.

Cercetările biochimice se vor efectua după schema indicată la capitolele anterioare.

Identificările serologice se vor face prin aglutinare pe lamă și în tuburi, utilizîndu-se serurile aglutinante poli—O și serurile de tip. În cazul de neaglutinare specifică, facem aglutinare cu faza nespecifică (fără flagel). În caz de reacție pozitivă se fac treceri pe geloză moale în tuburi în U. Se fac apoi treceri pe geloză înclinată și se repetă aglutinarea cu seruri specifice.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Aceiași ca la enterobacteriacee.

c) *Diagnosticul de laborator al infecțiilor cu b. dizenterici*

Grupul shigela cuprinde germeni Gram-negativi de 1—3/0,5 microni, imobili, izolați, anaerobi facultativi, catalazo-negativi. Fermentează fără producere de gaz, glucoza, levuloza, galactoza, rafinoza și glicogenul.

Scanned with OKEN Scanner

Reduce nitraţii în nitriţi. Pe geloză înclinată dă naştere la colonii rotunde 1,1—1,5 mm, lucitoare, uşor gri. Tulbură bulionul. Nu lichefiază gelatina. Nu modifică laptele. S-au diferenţiat 4 grupe A, B, C, D, în sînul cărora s-au descris mai multe tipuri serologice.

Subgrupul A — *Sh. dizenteriae,* cu 7 tipuri.

Subgrupul B — *Sh. flexneri* cu 6 tipuri şi 2 variante.

Subgrupul C — *Sh. Boydii* cu 11 tipuri

Subgrupul D — *Sh. Sonnei* cu 1 tip

Proprietăţile biochimice ale shigelelor le redăm în tabelul de mai jos.

Subgrupul	Tipul	Glucoză	Manitol	Zaharoză	Lactoză	Ramnoză	Arabinoză	Sorbitol	Indol
A. *Sh. dysenteriae*	1	+	—	×	—	—	—	—	—
	2	+	—	—	—	+	(+)	+	+
	3	+	—	—	—	—	+	+	—
	4	+	—	—	—	—	×	+	—
	5	+	—	—	—	+	+	+	—
	6	+	—	—	—	—	—	—	—
	7	+	—	—	—	+	+	—	+
B. *Sh. Flexneri*	1	+	+a	(+)	—	—	+	—	+
	2	+	+	—	—	—	+	—	d
	3	+	+	(+)	—	+	+	+	+
	4	+	+	×	—	—	d	d	+
	5	+	+	(+)	—	—	×	—	—
	6	+	d	—	—	—	—	—	—
C. *Sh. Boydii*	1	+	+a	—	—	—	+	+	—
	2	+	+	—	—	—	—	—	—
	3	+	+	—	—	—	+	+	—
	4	+	+	—	—	—	+	—	—
	5	+	+	—	—	—	+	+	+
	6	+	+	—	—	—	+	+	—
	7	+	+	—	—	—	+	+	+
	8	+	+	—	—	—	+	+	—
	9	+	+	—	—	—	d	+	+
	10	+	+	—	—	—	+	+	—
	11	+	+	—	—	+	+	×	+
D. *Sh. Sonne*	—	+	+	×	(+)	+	+	—	—

+ = pozitiv la 1—2 zile ;
— = negativ la 30 de zile ;
× = negativ sau tîrziu sau neregulat pozitiv ;
d = reacţii diferite : pozitive sau negative ;
a = variante manitol negative, cunoscute grupului B şi C.

Produse de examinat : materii fecale recoltate de la bolnavi acuţi, cronici şi foşti bolnavi. Recoltările se fac înainte de începerea tratamen-

Scanned with OKEN Scanner

tului, din scaunul spontan. Se mai fac recoltări direct cu sonda Nélaton din rect sau, dacă e posibil, chiar sub control rectoscopic din leziunile mucoasei. Se însămînţează imediat pe mediile de lucru sau pe medii de conservare.

Tehnica de lucru pentru izolarea şi identificarea shigelelor.

Ziua I

— Suspensia de materii fecale diluată aproximativ 1/10 în ser fiziologic se însămînţează pe medii cu bilă (agar-lactoză albastru de bromtimol şi mediul Istrate—Meitert).

Ziua a II-a

— Citirea plăcilor din ziua I.
— Se repică coloniile suspecte pe mediul cu bilă şi geloză simplă.
— Se fac aglutinări pe lame cu seruri antishigela.

Ziua a III-a

— Se aglutinează pe lamă culturile suspecte însămînţate în ziua a doua.
— Se fac treceri pentru probe biochimice.
— Se fac treceri pentru testarea mobilităţii.

Ziua a IV-a

— Citirea trecerilor din zilele anterioare.
— Aglutinări pe lamă şi în tuburi.
— Efectuarea testului biologic cheratoconjunctival Serreny.

Tehnică. O cultură vie de shigela proaspăt izolată şi suspendată în ser fiziologic steril, se introduce în sacul conjunctival al iepurelui, şoarecelui sau cobaiului. După 1—5 zile, apare o cheratoconjunctivită, care după 12—21 de zile se termină prin *restitutio ad integrum.*

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Mediul Istrate-Meitert	2 000 g
Mediul agar lactoză-bromthimol	2 000 g
Geloză simplă 2%, pH 7,6	2 000 g
Mediul cu zaharuri	2 000 g
Seruri aglutinante antishigela de grup şi de tip	2 serii
Material pentru 100 de antibiograme	
Material pentru 100 de teste de motilitate	
Material pentru 200 de coloraţii Gram	

d) *Diagnosticul infecţiilor cu escherichia coli*

Escherichia coli este un bacil Gram-negativ de 1—3/0,5 microni, polimorf, mobil, nesporulat, aerob şi facultativ anaerob. Creşte la + 30 pînă la +37°. Este catalazopozitiv. Pe geloză înclinată, se dezvoltă dînd colonii albe uşor gălbui, netede, strălucitoare, extensive. Fermentează cu producere de gaz : glucoza, levuloza, galactoza, maltoza, lactoza, rhamnoza, arabinoza, xiloza şi manitolul şi uneori zaharoza, rafinoza, salicina, aesculina, dulcitolul şi glicerolul. Reduce nitraţii în nitriţi şi produce indol. Este saprofit al intestinului omului. Poate fi patogen dînd infecţii urinare, intestinale şi generale, cu localizări în diferite organe.

Scanned with OKEN Scanner

Tulpinile O 111 B 4, O 55 B 5, O 26 B 6, O 127 B 8, O 119 B 14, O 125 B 15 şi O 126 B 16 produc sindromul toxicoseptic la copil.

Diagnosticul de laborator se bazează pe diagnosticul bacteriologic, probele serologice fiind neconcludente.

Produse de examinat.

— Sîngele : se efectuează hemoculturi în bulion-sînge.

— Urina : se efectuează urocultura. Se însămînţează urina ca atare sau sedimentul obţinut după centrifugare pe medii simple sau pe mediul diferenţial.

— Fecalele : coprocultura. Se însămînţează pe medii de diferenţiere Drigalscky, Levine sau mediile cu bilă.

— Puroiul, vărsăturile, probele alimentare, fragmente de organe recoltate de la cadavre se triturează şi se suspendă în ser fiziologic steril, apoi se însămînţează pe mediile solide amintite.

Din coloniile caracteristice, dezvoltate pe mediile de diferenţiere, se fac teste confirmative (testul I.M.V.I.K.).

	Esch. coli	*Aerobacter*	*B. Cloacae*
— Indol	+	+	—
— Roşu de metil	+	—	—
— Voges-Proskauer	—	+	+
— Utilizarea citratului pe mediul Koser	—	—	+

Se efectuează antibiograma.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Mediul Istrate-Meitert . . . . . 2 000 g
Mediul Drigalscky . . . . . 2 000 g
Mediul Levine . . . . . 2 000 g
Bulion pentru hemoculturi . . . . . 5 000 g
Material pentru indol 100 de teste
Material pentru roşu de metil 100 de teste
Material Voges-Proskauer 100 de teste
Mediul Koser
Material pentru 100 de antibiograme
Material pentru 200 de colorații Gram

e) *Diagnosticul infecţiilor cu germeni din grupul Proteus*

Specia tip :*Proteus vulgaris.* Bacili Gram-negativi ; de 1—3/5 microni, mobili, avînd cili peritrichi. Pe mediile uzuale se dezvoltă cu caracter invadant. Produc miros putrid. Pe geloză înclinată se prezintă sub formă de colonii opace gri invadante. În bulion cresc tulburînd mediul şi producînd peliculă groasă la suprafaţă. Lichefiază gelatina. Peptonizează laptele.

Scanned with OKEN Scanner

Diferenţierea lor se face pe baza caracterelor biochimice. Tulpina de Proteus O X 19, se utilizează în reacţia Weil—Felix.

Identificarea lor se face pe mediul Istrate—Meitert, dînd colonii caracteristice în ochi de pisică, avînd centrul negru înconjurat de o zonă albastră.

Ca test de patogenitate se utilizează inocularea produselor din abcese putride la şoarece sau cobai.

Inocularea se va face subcutanat.

În cazul în care apare un abces local sau o infecţie generalizată, tulpina se consideră patogenă.

— Diagnostic serologic : din ziua a IV-a de boală se poate face aglutinarea germenului identificat, cu serul bolnavului, urmărindu-se şi dinamica anticorpilor.

Reacţia este considerată pozitivă la un titru de peste 1/40.

Se efectuează antibiograma.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Mediul Istrate-Meitert . . . . . 2 000 g
Bulion simplu . . . . . 2 000 g
Material pentru 100 de antibiograme
Material pentru 100 de colorații Gram

f) *Diagnosticul de laborator al toxiinfecţiilor alimentare*

Toxiinfecţiile alimentare sînt îmbolnăviri acute izolate sau în masă. care apar după ingerarea de alimente contaminate cu germeni patogeni.

Incubaţia acestor îmbolnăviri este scurtă, de la cîteva ore la cîteva zile.

Sînt produse de germeni din grupa enterobacteriaceelor ca : *S. typhi murium, S. enteritidis, S. paratyphi* B şi C, *S. cholerae suis, Esch. coli* precum şi de coci Gram-pozitivi ca stafilococul, streptococul. De asemenea mai pot fi produse şi de germenii anaerobi ca, de pildă, toxiinfecţia botulinică.

Deoarece apariţia anticorpilor este tardivă, se practică diagnosticul bacteriologic, urmărindu-se izolarea şi identificarea directă a agentului etiologic.

Produse de examinat :

— Produse recoltate de la bolnav ca : hemocultura, urocultura, coprocultura, vomismente şi produse de spălătură gastrică.

— Alimente sau băuturi incriminate.

— Probe recoltate de la suspecţi, contacţi, foşti bolnavi şi mînuitori de alimente (fecale, urină).

— Probe de organe recoltate de la persoanele decedate.

Însămînţarea şi identificarea germenilor se face după tehnica indicată la capitolul enterobacteriaceelor, precum şi la capitolul infecţiilor cu stafilococ, streptococ, bacil botulinic, *proteus vulgaris* ş.a.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Aceiaşi ca la enterobacteriacee.

3. INFECŢIILE CU ALŢI GERMENI

a) *Diagnosticul infecţiilor cu Klebsiella*

Klebsiella pneumoniae produce singură sau în asociaţie cu alţi germeni, procese pneumonice, bronşice, bronşiectazii, pleurezii, angine, rinite, otite, apendicite, colecistite, pielonefrite, prostatite ş.a.

Klebsiella ozenae. S-a izolat în secreţia nazală a bolnavilor de ozenă.

Klebsiella rhinoscleromatis. Germeni patogeni izolaţi din secreţia nazală de la bolnavii cu rinosclerom.

În exsudatele directe se recunoaşte uşor, după capsule. Pe mediile de cultură se dezvoltă uşor. Se identifică apoi pe baza caracterelor biochimice, specificate mai jos (după Wilson şi Miles).

Klebsiella	Glucoza	Maltoza	Manita	Lactoza	Zaharoza	Amigdalina	Inozitol	Adonitol	Lapte turnesolat	Roşu de metil	Voges-Proskauer	Creştere pe m. citratat	Creştere pe m. biliat	Hidroliza ureei
pneumoniae	+ G	+ G	+ G	+ G	+ G	+ G	+ G	+ G	acid	+	+	+	+	+
ozenae	+	+	+	+	±	±	—	+	coagulare	+	—	±	±	±
rhinoscleronatis	+	+	+	—	+ G	—	+	+	acid	+	—	—	—	—

Se efectuează antibiograma.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Geloză sînge . . . . . 2 000 g
Geloză simplă . . . . . 2 000 g
Bulion simplu . . . . . 2 000 g
Material pentru 100 de antibiograme
Material pentru 100 de coloraţii Gram

b) *Diagnosticul infecţiilor produse cu vibrionul holeric*

Diagnosticul bacteriologic. Dacă însămînţările nu se pot face direct de la bolnav, recoltarea fecalelor se va face în colectoare speciale în soluţie conservantă.

Soluţia conservantă recomandată de O.M.S. are următoarea compoziţie :

Acid boric . . . . . 12,405 g
Kalium chloratum . . . . 14,912 g

Scanned with OKEN Scanner

Se dizolvă în 100 ml de apă caldă.

La 250 ml din soluția de mai sus se adaugă 133,5 ml natriu hidroxid N/5 și se aduce la 1 000 ml. Se adaugă apoi 20 g *natrium chloratum*, se filtrează și se repartizează cîte 10 ml în colectoare speciale, apoi se sterilizează la 120°, o oră.

pH final 9,2.

Tehnică.

— Se adaugă 2—3 ml materii fecale sau vărsături de la bolnav sau 1—2 cm^2 pînză din rufele murdărite cu fecale.

— Se face examenul macroscopic al scaunelor pentru decelarea aspectului caracteristic riziform.

— Cercetarea mobilității germenilor între lame și lamele direct din produs.

— Însămînțarea produselor patologice (fecale, vărsături) provenite de la bolnavii acuți.

Însămînțarea se face pe apă peptonată alcalină :

Peptonă siccum Witte.	100 g
Natrium chlorat	100 g
Kalium nitricum	1 g
Natrium carbonicum cryst.	2 g
Apă distilată	1 000 ml

Se dizolvă ingredientele în apă distilată la cald și se ajustează pH-ul la 8,6—9. Se sterilizează 30 de minute, la 120°, și se repartizează în flacoane. Înainte de utilizare, mediul se diluează cu apă sterilă în proporție de 1 parte mediu la 9 părți apă.

După o incubare de 6—7 ore, se fac treceri pe medii solide.

După Nestorescu, recomandăm următoarele medii :

— *Mediul lui Aronson.* La 1 litru de apă de robinet se adaugă 35 g agar-agar. După 24 de ore se adaugă la 10 g extract de carne, 10 g peptonă și 5 g natriu clorat. Se fierbe 4—5 ore. Se lasă să se depună înclinat și după depunerea sedimentului supernatantul se decantează în baloane de 250 ml. La 100 g mediu fierbinte se adaugă 6 ml soluție carbonat de sodiu anhidru 10%. Se fierbe 15 minute și apoi se adaugă : zaharoză soluție 20% 5 ml, dextrină soluție 20% 5 ml, fucsină diamant soluție alcoolică saturată 0,4 ml și sulfit de sodiu 10%, soluție proaspăt preparată 2 ml. Soluția de zahăr se sterilizează în prealabil prin fierbere, timp de 30 de minute. Din 100 ml mediu Aronson se prepară 2 plăci, care se usucă la termostat. Se păstrează mai multe zile la întuneric. Pe acest mediu coloniile de *vibrio comma* se dezvoltă după 15—20 de ore, avînd culoare roșie strălucitoare.

— Mediul Dieudonné : O parte sînge defibrinat de bou și 1 parte soluție hidroxid de potasiu N/1, se sterilizează 30 de minute la vapori

Scanned with OKEN Scanner

fluenţi de amestec steril 30 ml de singe lactat şi 70 ml geloză 3% şi se toarnă în plăci Petri; pH-ul mediului este 9. Plăcile se usucă cîteva zile la 37°, apoi se utilizează în decurs de 10 zile.

Produsele provenite de la contacţi, convalescenţi sau purtători, se vor trece întîi pe mediile de îmbogăţire, apoi pe mediile solide.

Mediul de îmbogăţire cu bilă de bou

Bilă de bou proaspătă, filtrată	1 000 ml
Carbonat de sodiu cristalizat	50 g
Nitrat de potasiu	1 g

Se distribuie în 5 ml în tuburi şi se sterilizează 20 de minute, la 110°.

Cercetarea vibrionilor holerici în apă.

La 200 ml apă de cercetat, se adaugă 20 ml soluţie concentrată de apă peptonată. Se aduce la pH 9 cu hidroxid de sodiu N/1 în prezenţa albastrului de bromtimol. După incubaţia de 12 ore, se trec 2 ml din apa, astfel incubată, într-un tub cu 10 ml apă peptonată. Se incubează 6 ore, apoi se trece pe medii solide.

Identificarea tulpinilor izolate se face prin reacţia de aglutinare cu serurile antiholerice O, Inaba şi Ogawa, în diluţie 1/50 pînă la 1/100, pe lamă. Se fac apoi aglutinări în tub. Germenii vor fi trecuţi pe geloză 2%, iar diluţiile se fac cu ser fiziologic formolat 2‰. Se incubează la 52° şi se citeşte după 2 şi 24 de ore.

— Se cercetează hemolizina, faţă de hematiile de capră.

— Se cercetează fenomenul Pfeiffer—Isaeff *in vivo* şi *in vitro* (fenomenul de vibrioliză).

— Se cercetează sensibilitatea la antibiotice.

Reactivi necesari (pentru 100 de probe)

Cod 516	*Acidum boricum sicc.* p. a.	25 g
Cod 6 335	*Dextrinum album puriss*	10 g
Cod 9 597	*Kalium chloratum* p. a.	30 g
Cod 9 736 +)	*Kalium nitricum* pt. a.	10 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum chimic purum*	500 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	100 g
Cod 12 369	*Natrium sulfurosum sicc.* p. a.	10 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	500 g
Cod 15 005	*Sacharosa* p. a.	10 g
Cod 19 532	*Fuchsin diamant*	1 g
	Seruri aglutinante antiholerice	100 de fiole
	Material pentru 100 de antibiograme	
	Material pentru 100 de colorații Gram	

Scanned with OKEN Scanner

c) *Diagnosticul infecţiilor cu Pseudomonas*

Ps. aeruginosa. Pe geloză înclinată dă colonii mari albastre-verzi sau galbene-verzui, cu caracter invadant. Produce trei pigmenţi : piocianina, fluoresceina şi piorubrina. Lichefiază gelatina şi coagulează laptele. Pe cartofi dă colonii brune în timp ce mediul se colorează în verde. Nu fermentează glucidele. Lichefiază serul coagulat. Produce hemolizină. Produce un miros caracteristic de trimetilamină. Reduce nitraţii în nitriţi. Nu produce indol. Sensibilitate redusă la antibiotice.

Ps. fluorescens : are aceleaşi caractere morfologice ca şi *Ps. aeruginosa.* Creşte optim la 20—25°. Coloniile sînt verzi-galbene şi roşiatice, iar mediul verde-fluorescent pînă la brun. Lichefiază gelatina, nu coagulează laptele. Fermentează glucoza. Reduce nitraţii. Lichefiază serul coagulant. Sensibilitate redusă la antibiotice.

Diagnosticul bacteriologic

— Cultivare pe mediile uzuale : geloză simplă, geloză-sînge, ser coagulat, bulion simplu, cartof.

— Punerea în evidenţă a pigmenţilor.

— Punerea în evidenţă a mirosului.

— Efectuarea reacţiei citrocromoxidazei (Kovacs şi Hadlej) pentru culturile acromogene.

Tehnică. 4—5 ml cultură în bulion + 0,2 ml soluţie alcoolică 1% de α-naftol + 0,3 ml paraaminodimetil anilin oxalat soluţie 1%. După agitare de 15—30 de secunde, apare o culoare albastră, care indică prezenţa citrocromoxidazei.

Antibiograma.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 2 798	*Amino dimetilanilinum para* p. a. . .	1 g
Cod 11 560	*α-naphtolum pulvis* p. a.	1 g
	Geloză sînge	2 000 ml
	Geloză simplă	2 000 ml
	Bulion simplu	1 500 ml
	Ser coagulat de bou	1 500 ml
	Gelatină	1 500 ml
	Material pentru 100 de antibiograme	
	Material pentru 200 de colorații Gram	

d) *Diagnosticul bacteriologic al infecţiilor cu bacili difterici*

Tipul gravis : lasă bulionul limpede, formează peliculă şi sediment. Pe Clauberg, dă colonii negre de tip R cu halo albastru.

Tipul mitis : tulbură uniform bulionul. Pe mediul Clauberg, dă colonii de tip S.

Tipul *intermedius :* formează un sediment grunjos, tulbură uniform bulionul şi uneori formează pelicula. Pe mediul Clauberg are un aspect intermediar între cele două forme.

Scanned with OKEN Scanner

Produce o exotoxină puternică. Se dezvoltă la pH 5,7—8,7.

Nu reduce nitraţii, nu lichefiază gelatina, nu acţionează asupra ureei. Produce hidrogen sulfurat. Tipurile gravis şi intermedius sînt hemolitice, iar tipul mitis este nehemolitic. Se găseşte în rinofaringele bolnavilor, rămînînd localizat la poarta de intrare.

Diagnosticul bacteriologic. Se urmăreşte izolarea şi identificarea bacilului difteric, din produsele patologice (exsudat faringian, falsă membrană, secreţie nazală, secreţie conjunctivală, secreţie vaginală). Prezenţa bacililor difterici, fără fenomene clinice nu prezintă importanţă diagnostică. În cazul unui examen negativ, în prezenţa unor fenomene clinice caracteristice, nu se poate infirma diagnosticul.

Ziua I

Se recoltează 2 tampoane cu exsudat faringian sau nazal. Tamponul nr. 1 se utilizează pentru efectuarea a 3 frotiuri, care se fixează la flacără şi se colorează Gram, Neisser şi după metoda del Vechio.

Coloraţia del Vechio: colorare cu albastru de metilen Löffler 10 minute. Spălare. Mordansare cu soluţia Lugol 10 minute, apoi spălare, uscare şi citire. Corpusculii apar bruni-verzui, iar bacilul galben.

Rezultatul examenului frotiurilor nu poate fi cert, din cauza asemănării între bacilii difterici şi pseudodifterici.

Tamponul nr. 2 se însămînţează pe mediul de îmbogăţire O.C.S.T., introducîndu-se tamponul în acest mediu şi incubîndu-se la termostat.

Tamponul nr. 3 se însămînţează pe geloză-sînge, ser coagulat Löffler, Clauberg şi Gundel—Tietz.

— De la purtător se recoltează din nas şi gît cîte un tampon care se introduce în O.C.S.T.

Ziua a II-a

— Citirea plăcilor şi tuburilor însămînţate în ziua I şi efectuare de frotiuri colorate Gram şi del Vechio.

— Repicări de pe Clauberg şi Tietz, pe bulion şi Löffler.

— Descărcarea tamponului din O.C.S.T., pe Clauberg, Tietz, Löffler şi geloză-sînge.

Ziua a III-a

— Din culturile cu caracter morfologic şi tinctorial caracteristic, se fac cercetări biochimice. Aceste cercetări ne oferă posibilitatea stabilirii diagnosticului de tip, precum şi a diferenţierii faţă de bacilii pseudodifterici.

Fermentarea zahărurilor

C. difteric	Glucoză	Zaharoză	Manită	Maltoză	Levuloză	Dextrină	Amidon	Glicogen
Tipul *gravis*	+	—	—	+	+	—	+	+
„ *mitis*	+	—	—	+	—	—	—	—
„ *intermedius*	+	—	—	+	+	+	—	—
C. Hoffmanni	—	—	—	—	—	—	—	—
C. Xerosis	+	+	—	+	+	—	—	—
C. cutis commune	+	+	—	+	—	—	—	—

Producerea H_2S.

Scanned with OKEN Scanner

C. diphteriae descompune cistina producînd H_2S. Pseudodiftericii nu se dezvoltă sau, în cazul în care se dezvoltă, nu produc înnegrirea mediului.

Cercetarea ureazei : diftericii sînt ureazonegativi, în timp ce pseudodiftericii sînt în cea mai mare parte ureazopozitivi.

Cercetarea fosfatazei : diftericii slab pozitivi, *C. Hoffmanni* și *C. xerosis* sînt intens pozitivi.

Cercetarea hemolizei : 1 ml cultură în bulion + 0,5 ml ser fiziologic + 0,5 ml suspensie hematii de iepure 5%. Se citește după 24 de ore.

Cercetarea testelor de patogenitate *in vivo*.

Cercetarea testelor de precipitare în gel E.O.F. (Elek—Ouchterlony—Frobisher).

Mediul de bază : peptonă 2 g, agar-agar 1,5 g, natriu clorat 0,5 g, macerat de carne 100 ml, pH = 7,8, sterilizare 15 minute, la 120°. Se topește, se răcește la 50° și se adaugă steril 20 ml ser de iepure sau de bou. Se toarnă în plăci. Se ia steril o fîșie de hîrtie de filtru de 6/1,5 cm sterilizată în prealabil 20 de minute, la 120°. Se îmbibă cu ser antidifteric 500 u. A/ml. Se scurge excesul și se introduce profund în geloză. După solidificarea plăcilor se usucă la termostat. Însămînțările se fac în striuri, perpendicular pe banda de hîrtie de filtru. Toxina microbiană, în contact cu antitoxina din ser produc o bandă de precipitare în gelul de agar, care se intensifică la rece.

Se efectuează anitibiograma.

Se stabilește receptivitatea față de bacilul difteric prin reacția Schick (vezi intradermoreacția).

Bacilii pseudodifterici

Coryne bacterium Hoffmanni se găsește frecvent în nazofaringele persoanelor sănătoase.

C. cutis commune, saprofit al tegumentelor și al foselor nazale.

C. xerosis conjunctivalis se izolează din conjunctivite.

Caractere diferențiale față de bacilii difterici s-au arătat mai sus.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Ser coagulat Löffler	1 500 ml
Mediul Clauberg	2 000 ml
Mediul Gundel-Tietz	2 000 ml
Geloză-sînge	2 000 ml
Mediul O.C.S.T.	500 ml
Material pentru 300 de colorații Gram	
Material pentru 300 de colorații Löffler	
Materal pentru 300 de colorații Neisser	
Material pentru 100 de teste H_2S	
Material pentru 100 de teste fosfataze	
Material pentru 100 de antibiograme	
Ser antidifteric 1 000 u.	100 de fiole
Material pentru 100 de reacții Schick	

Scanned with OKEN Scanner

e) *Diagnosticul listeriozelor*

Listeria monocitogenes este bacil Gram-pozitiv, de 1—8 microni, mobil avînd cili peritrichi. Nu are spori și nu posedă capsulă. Crește în mediul aerob și facultativ anaerob. Se dezvoltă bine pe medii cu sînge, ser și extract de ficat. Pe geloză dă colonii mici transparente, cu aspect de picătură de rouă. Este catalazopozitiv. Reduce nitrații.

Diagnosticul bacteriologic.

Produse de cercetat : lichid cefalorahidian, sînge, organe recoltate de la cadavre.

Lichidul cefalorahidian prezintă hiperleucocitoză cu limfocitoză și albumină crescută. Din sedimentul de centrifugare se fac frotiuri. Se găsesc un număr redus de bacili Gram-pozitiv intra- și extracelulari.

Hemocultura : însămînțările se fac pe bulion glucozat + ser sau pe bulion glucozat + sînge. Se fac treceri pe geloză sînge.

Din organele recoltate de la cadavre, se fac însămînțări pe geloză-sînge și geloză-ser.

Identificarea se face prin reacția de aglutinare cu seruri. Se efectuează antibiograma.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Bulion-ser pentru hemocultură	8 000 g
Geloză-sînge	2 000 g
Geloză-ser	2 000 g
Seruri aglutinante	100 de fiole
Material pentru 100 de antibiograme	
Material pentru 200 de colorații Gram	

f) *Diagnosticul brucelozei*

Infecția bruceloasă este o zoonoză produsă de *Br. melitensis*, *Br. abortus bovis*, *Br. suis*, *Br. ovis*.

Brucelele sînt cocobacili de 0,6—1,2 microni/0,5. Sînt polimorfe, uneori incapsulate, se dezvoltă lent în 2—7 zile, pe medii lichide și în 48—72 de ore pe medii solide. Cresc în atmosferă de bioxid de carbon la pH 6,6—7,2. Sînt Gram-negative.

Br. melitensis produce o infecție acută. Celelalte brucele produc o infecție cronică.

Diagnosticul bacteriologic. Se urmărește izolarea germenului din sînge, măduvă, ganglioni limfatici, placente de avorton, organe recoltate chirurgical sau de la autopsie, fecale, urină etc.

Se efectuează următoarele examene :

Bacterioscopia directă — nu dă indicații certe.

Hemocultura, adenocultura, medulocultura, culturi din bilă, pe medii lichide (bulion glucozat 1% incubat în atmosferă de CO_2 10%, din care se fac treceri pe geloză înclinată).

Scanned with OKEN Scanner

Se inoculează la 2 cobai cîte 1 ml sînge sau suspensie din produsele patologice. Se urmăresc timp de 60 de zile. La 45 de zile se practică reacţia la brucelină şi după 60 de zile se sacrifică şi se fac organoculturi.

Efectuare de ovoculturi pe ou embrionat de 5 zile, inoculările făcîndu-se în sacul vitelin. După 120 de ore se fac treceri pe medii adecvate.

Se testează producerea de H_2S pe geloză înclinată şi hîrtie înmuiată în acetat de plumb timp de 8 zile.

Se efectuează antibiograma.

Se efectuează următoarele examene serologice : R. Wright, R. Huddleson, R. inelară şi R.F.C.

Intradermoreacţia la melitină.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 14 148	*Plumbum aceticum basicum cryst. purum*	10 g
	Bulion glucozat pentru hemoculturi .	20 000 g
	Bulion glucozat în tuburi	1 000 ml
	Geloză înclinată	3 000 ml
	Materiale pentru 100 de antibiograme	
	Materiale pentru 100 de colorații Gram	
	Materiale pentru 100 de reacţii Huddleson	
	Materiale pentru 100 de reacţii Wright	
	Materiale pentru 100 de reacţii inelare	
	Materiale pentru 100 de R.F.C.	
	Melitină	100 fiole

g) *Diagnosticul de laborator al tularemiei*

Pasteurella tularensis este agentul etiologic al tularemiei, boală spontană a rozătoarelor, care se transmite la om direct sau prin insecte vectoare. Are dimensiuni mici, 0,2—0,7 microni prezentînd polimorfism. Este imobil, fără spori, incapsulat, Gram-negativ. Se dezvoltă greu pe mediile de cultură obişnuite. Este aerob şi anaerob facultativ. La om produce tularemia, forma ganglionară, forma viscerală, precum şi forme inaparente.

Diagnosticul bacteriologic

Nu se poate pune în evidenţă germenele, în frotiuri directe.

Culturile se efectuează greu.

Produsele de examinat, sîngele şi secreţia ganglionară precum şi secreţia conjunctivală se inoculează intraperitoneal, la cobai sau şoarece. Şoarecele moare în 3—6 zile cu leziuni caracteristice. În sînge şi organe, se pun în evidenţă un număr mare de germeni. Se fac însămînţări pe mediul Francis (geloza 2%, glucoza 1%, cistina 0,1%, sînge de iepure 5%) pe care se obţin colonii rotunde, mucoase, lactescente.

Scanned with OKEN Scanner

De asemenea cultivă pe mediul McCoy (gălbenuș de ou 60% și ser fiziologic 40% — mediul fiind coagulat), pe care crește sub formă de colonii mici transparente.

Diagnostic serologic. Se practică reacția de aglutinare cu antigen de *P. tularensis.* Reacția se incubează 2 ore la 37°, apoi 24 de ore la frigider. O aglutinare pozitivă se consideră la titrul de peste 1/80.

Diagnostic prin I.D.R. Se practică I.D.R. la tularină.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 6 118	*Cystinum D. L. purum*	0,1 g
Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	1 g
	Geloza 2%	500 g
	Material pentru 100 r. de aglutinare cu P. tularensis	
	Material pentru 100 I.D.R. la tularină	

h) *Diagnosticul infecțiilor cu Haemophillus*

Germenii din genul *Haemophillus* sînt cocobacili Gram-negativi, imobili, hemofili, strict paraziți. Unii sînt patogeni pentru animale cu sînge cald, altele pentru animale cu sînge rece.

— *Haemophillus influenzae* sau cocobacilul Pfeiffer este un cocobacil pleumorf, de 0,2—0,4 microni. Sînt imobili, dispuși în diplo sau lanțuri scurte, incapsulați, Gram-negativi, colorîndu-se uneori bipolar. Se izolează numai de la om. Produce îmbolnăvirea căilor respiratorii superioare și a sinusurilor. Uneori produce infecții secundare de asociație.

Diagnosticul bacteriologic. Produse de examinat: sputa, sîngele, lichidul cefalorahidian.

Ziua I

Se efectuează procedee directe: frotiuri colorate Gram, direct din produs.

Se practică reacția de umflare a capsulei: părți egale de produse de cercetat se amestecă cu ser *anti-H. influenzae* de tip, făcîndu-se și un martor cu ser fiziologic.

Se efectuează reacția de precipitare: se pune în contact lichidul de cercetat cu o coloană egală de ser *anti-H. influenzae* de tip. În caz de reacție pozitivă, apare un inel alb, la limita dintre cele două lichide.

Însămînțări pe medii de cultură.

Hemocultura: se însămînțează pe bulion cu hemoglobină 5% (mediul Levinthal fără geloză).

Celelalte produse se însămînțează pe agar ciocolatiu și pe mediul Levinthal: (geloză topită și amestecată cu sînge defibrinat de iepure sau de om în proporție de 5%. Se fierbe, apoi se filtrează, se repartizează și se sterilizează 10 minute, la 110°).

Ziua a II-a

Coloniile cu aspect strălucitor se testează prin reacția de umflare a capsulei.

Se efectuează antibiograma.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Materiale pentru 200 de colorații Gram	
Materiale pentru 100 de colorații cu albastru de metilen	
Materiale pentru 100 de anitibiograme	
Ser H. influenzae de tip pentu reacția de precipitare	100 de fiole
Ser H. influenzae de tip pentru umflarea capsulei	100 de fiole
Agar ciocolatiu	3 000 g
Geloză-sînge	2 000 g
Bulion glucozat pentru hemoculturi	5 000 g

— *Haemophillus Ducrey* este agentul etiologic al șancrului moale. Este un cocobacil mic, de 1—1,5 microni, nesporulat, Gram-negativ. Sînt izolați sau în lanțuri scurte. Crește pe mediile de cultură uzuale în condiții de aerobioză. Se izolează exclusiv de la om.

Diagnosticul bacteriologic. Produse de examinat : secreția din șancru și puroiul din adenita consecutivă șancrului.

— Examen microscopic direct din produse : se efectuează colorația Gram și albastru de metilen. Caracteristic pentru *H. Ducrey* este colorația bipolară.

— Însămînțări pe medii de cultură : se însămînțează pe următoarele medii de cultură :

Geloză sînge de iepure 30% în atmosferă de CO_2 10%. Se dezvoltă colonii mici, convexe, cenușii, strălucitoare, cu zonă mică de hemoliză.

Pe bulion-sînge defibrinat de iepure 20%.

Pe mediul Nicolau—Banciu : apă peptonată + sînge defibrinat de om 20%. Se dezvoltă sub formă de peliculă.

— I.D.R. Ito-Reenstierna : se inoculează intradermic 0,1 ml cultură de *H. Ducrey* omorîtă prin căldură. Este pozitivă timp îndelungat după vindecare, servind la stabilirea diagnosticului retrospectiv.

— Efectuarea antibiogramei.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Material pentru 200 de colorații Gram	
Material pentru 200 de colorații cu albastru de metilen	
Materiale pentru 100 de antibiograme	
Geloză sînge	2 000 g
Bulion sînge	2 000 ml
Apă peptonată	1 500 ml

i) *Diagnosticul infecțiilor produse cu germenii din genul Bordetella*

Bordetella pertussis, agentul patogen al tusei convulsive, este un cocobacil de 1—1,5 microni. Se găsește izolat sau în grupe mici și în lan-

Scanned with OKEN Scanner

ţuri scurte. Este Gram-negativ. Uneori prezintă granulaţii metacromatice bipolare. Este imobil, nesporulat şi posedă capsulă. Creşte pe medii cu sînge.

Diagnosticul bacteriologic.

— Însămînţarea stropilor proiectaţi în timpul tusei pe mediul Bordet—Gengou.

— Însămînţarea secreţiei nazofaringiene pe mediul Bordet—Gengou: se dezvoltă colonii cu diametru de 1 mm, rotunde, cu margini regulate, şi reflexe metalice, cu uşoară zonă de hemoliză.

— Se efectuează antibiograma.

— Se efectuează indicele opsoninocitofagic I.O.C.

Tehnică. Se recoltează 0,04 ml sînge din pulpa degetului şi se amestecă cu 0,2 ml citrat de sodiu 4%. Se adaugă 0,02 ml antigen *pertussis* pentru I.O.C. produs de Institutul „Dr. I. Cantacuzino". Se ţine 30 de minute la 37°, agitîndu-se. Se fac frotiuri, se usucă, se fixează cu alcool metilic 15 minute şi se colorează apoi cu Giemsa, 30—45 de minute. Se face şi un martor cu sînge normal. Se numără din ambele probe cîte 50—100 de polinucleare şi se notează numărul de leucocite care au fagocitat germeni. Se raportează valoarea probei de testat la valoarea probei martor. Valorile peste 3 la copiii sub 3 ani şi peste 5 la copiii mai mari de 5 ani sînt considerate crescute, datorită opsoninelor specifice.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 2 419 +)	*Alcohol methylicus* pt. a.	50 ml
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum pur* . .	4 g
	Material pentru 100 de colorații Gram	
	Material pentru 100 de colorații albastru de metilen	
	Mediul Bordet-Gengou	4 000 g
	Material pentru 100 de antibiograme	
	Material pentru 100 de colorații Giemsa	
	Agar-agar fibre	50 g
	Antigen pertussis pentru I.O.C. . . .	100 fiole

j) *Diagnosticul bacteriologic al infecţiei cărbunoase*

Aceste infecţii sînt produse de *bacillus anthracis*. Este un bacil Gram-pozitiv, de 3—10/1—3 microni, cu extremităţile retezate ori concave. Bacilii cărbunoşi sînt incapsulaţi, sporulaţi, prezentînd spori centrali. Se cultivă pe medii aerobe şi anaerobe (facultativ). Pe mediile de cultură dă naştere la colonii mari cenuşii, cu suprafaţa rugoasă, neregulată, cu aspect de buclă de păr. În bulion produce depozit floconos. Coagulează laptele şi lichefiază gelatina în formă de brad inversat. Fermentează, fără producere de gaz, glucoza, trehaloza, fructoza, zaharoza, maltoza şi dextrina şi hidrolizează amidonul. Reduce nitraţii în nitriţi şi albastru de metilen. Este patogen pentru animale şi om, producînd la om antraxul cutanat, pulmonar şi gastrointestinal.

Scanned with OKEN Scanner

Produse de cercetat: serozitate din pustulă, lichid de edem, sînge pentru hemocultură, spută, fecale, fragmente de organe de la cadavru (splină, ficat, piele).

Ziua I

a) Cărbune cutanat: se efectuează frotiuri colorate cu albastru de metilen şi Gram.

Se efectuează culturi din serozitate, pe geloză-sînge, geloză simplă şi bulion.

b) Cărbune pulmonar: se efectuează frotiuri din spută.

Se efectuează hemoculturi pe bulion simplu.

Se efectuează culturi din spută pe geloză-sînge, geloză simplă şi bulion.

c) Cărbune intestinal: se efectuează hemocultură, frotiuri şi culturi din fecale, ca mai sus.

d) Se efectuează culturi din organe sau piele de la cadavre.

Ziua a II-a

Cercetarea culturilor din ziua I, efectuare de frotiuri, colorate Gram, treceri din hemoculturi.

În culturile, în care s-a dezvoltat şi flora de asociaţie, se va inactiva această floră prin încălzire 60 de minute, la 60°, apoi se vor face treceri pe agar simplu.

Se efectuează antibiograma.

Ziua a III-a

Se identifică culturile rămase din ziua a II-a.

Se efectuează proba patogenităţii pe şoarece, inoculînd 0,5 ml din cultura în bulion intraperitoneal.

După sucombarea animalului se face autopsia, efectuîndu-se frotiuri din organe.

La examenul cărnii şi a derivatelor de carne, pe lîngă examenele de mai sus se va efectua şi R. Ascoli, punîndu-se în contact extractul din produsele cercetate, cu serul imun anticărbunos. Reacţia este pozitivă dacă apare un inel de precipitare.

Reactivi specifici (pentru 100 de examene)

Geloză-sînge	2 000 ml
Geloză simplă	2 000 ml
Bulion simplu	2 000 ml
Material pentru 100 de antibiograme	
Material pentru 300 de colorații Gram	
Material pentru 300 de colorații albastru de metilen	
Ser imun anticărbunos	100 fiole

k) *Diagnosticul de laborator al toxiinfecţiei tetanice*

Clostridium tetani face parte din genul *Clostridium*, familia *Bacilaceae*; este agentul patogen al toxiinfecţiei tetanice. Se găseşte în pămînt şi în intestinul omului şi al animalului. Este bacil de 3—4/0,4 microni cu spori terminali, Gram-pozitivi, ciliat posedînd cili peritrichi, mobil, nein-

Scanned with OKEN Scanner

capsulat, anaerob. Produce indol şi H_2S. Reduce roşu neutru. Secretă hemolizină. Se dezvoltă pe toate mediile de cultură în condiţiuni de anaerobioză. Tulbură bulionul, formează depozit şi degajează gaze şi miros de corn ars. Pe gelatină înţepată, produce aspect de brad răsturnat. Pe geloză moale dă colonii pufoase. La om produce tetanosul, prin infectarea plăgilor accidentale sau operatorii cu spori de bacili tetanici.

Diagnosticul bacteriologic

— Semnele clinice fiind evidente, iar culturile fiind foarte rareori pozitive, diagnosticul de laborator se utilizează mai mult pentru controlul sterilităţii unor produse ca : catgut, comprese tifon, material de sutură şi material de pansament.

— Însămînţări pe medii de cultură.

Se efectuează însămînţări în bulion cu ulei de parafină, regenerat prin fierbere timp de 10 minute şi răcit. Se incubează 3 zile la 37°. Se inactivează flora asociată şi formele vegetative, prin încălzire timp de 30 de minute, la 80°. Acest material care conţine numai spori de tetanos, se va însămînţa pe geloză Veillon sau bulion cu strat de parafină, pentru obţinere de culturi pure.

Inocularea la cobai este cea mai bună metodă de identificare. Confirmarea diagnosticului se face prin apariţia de paralizii, contracturi şi convulsii locale şi generale şi moartea animalului.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 13 340 *Oleum paraffini* D=0,890 *purum* . . 1 000 g
Material pentru 200 de coloraţii Gram
Bulion simplu . . . . . 10 000 g

l) *Diagnosticul de laborator al infecţiei botulinice*

Clostridium botulinum este agentul etiologic al toxiinfecţiei botulinice. Este bacil Gram-pozitiv, de 4—9/2 microni, cu spori ovalari subterminali, ciliat, strict anaerob. Creşte abundent pe bulion glucozat cu degajare de gaz şi miros rînced. Produce o toxină foarte puternică. Este răspîndit în sol, vegetale şi intestinul omului şi animalului.

Diagnosticul bacteriologic. Produse de examinat : alimente de origină animală şi vegetală, conserve, produse patologice (vărsături, fecale, urină, sînge) şi organe recoltate la autopsie.

Alimentele, produsele patologice precum şi probele recoltate de la cadavre se recoltează luîndu-se porţiuni solide şi lichide. Se ambalează bine şi se expediază prin curier la laborator. Resturile alimentare şi ambalajele se îngroapă. În laborator, se triturează în mojar, diluîndu-se cu ser fiziologic steril. Se centrifughează 30 de minute la 3 000 ture. Sedimentul se însămînţează pe medii de cultură, iar supernatantul se utilizează pentru decelarea toxinei.

Însămînţarea pe mediile de cultură (după prof. Nestorescu).

Sedimentul se resuspendă în ser fiziologic steril, se încălzeşte la 80°, timp de 30 de minute, după care se însămînţează pe mediul Veillon şi pe geloză sînge (în aparat de vid). Toxina se obţine pe bulion V.F. în cul-

Scanned with OKEN Scanner

tură de 5 zile. Se centrifughează și se filtrează această cultură, apoi filtratul se inoculează la șoarece sau cobai, care mor cu simptome caracteristice.

Punerea în evidență a toxinei botulinice :

Supernatantul obținut la centrifugarea alimentelor, precum și produsele biologice ca : sînge inactivat la 50° și urină, se inoculează la șoarece, intraperitoneal, în cantitate de 0,5 și 1 ml. La cobai se inoculează subcutanat 1—2 ml.

Determinarea speciei de *Cl. botulinum*, căreia îi aparține toxina, se face astfel :

Se inoculează cîte 2 șoareci, cu cîte 0,5 ml ser antibotulinic de tip A, B sau E. După 30 de minute, li se administrează, intraperitoneal, 0,5 ml supernatant de cercetat. Se inoculează și 2 șoareci cărora nu li s-a administrat ser protector. Șoarecii vor muri, supraviețuind doar cei doi șoareci inoculați cu serul de tipul *Cl. botulinum* omolog.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 13 340	*Oleum paraffini* D=0,890 *purum* . .	500 ml
	Material pentru 200 de colorații Gram	
	Material pentru 200 de colorații pentru spori	
	Material pentru 200 de colorații pentru cili	
	Bulion glucozat	5 000 g
	Geloză Veillon	2 000 g
	Geloză-sînge	200 g
	Seruri specifice antibotulinice A, B și E	300 fiole

m) *Diagnosticul de laborator al gangrenelor gazoase*

Gangrenele gazoase sînt toxiinfecții caracterizate prin edemul și necroza rapidă a țesuturilor, însoțită de formarea de gaze. Se datoresc unor bacterii anaerobe din grupa clostridiilor. Importanță pentru patologia umană prezintă : *cl. perfringens, cl. oedematiens, cl. septicum, cl. histoliticum, cl. bifermentans* și *cl. fallax*, care pot produce singure sau în asociație cu alți germeni, infecțiile gangrenoase.

Evoluția rapidă a gangrenei gazoase și timpul lung necesar identificării precise a acestor germeni fac ca în practică diagnosticul bacteriologic să se execute după o schemă redusă, urmînd ca identificările să se facă la nivelul Institutului „Dr. I. Cantacuzino" și al laboratoarelor de specialitate.

Produse de examinat : sînge, conținut de flictene, exsudat din plăgi, fragmente de mușchi sau țesuturi, fragmente de organe recoltate la autopsie, materii fecale, pămînt, materiale de pansat etc.

Diagnosticul bacteriologic

— Se face bacterioscopia directă din produsele recoltate, efectuîndu-se frotiuri colorate cu albastru de metilen și Gram, precum și colorații pentru spori.

Scanned with OKEN Scanner

Însămînţarea hemoculturilor. În baloane cu bulion glucozat 2% cu strat de parafină, regenerate prin fierbere şi răcire. Se însămînţează şi în bulion glucozat pentru flora aerobă.

Însămînţarea produselor patologice şi diverse.

Produsele solide se triturează steril, în mojar cu nisip. Se diluează cu ser fiziologic steril în părţi egale. Se centrifughează. Atît supernatantul, cît şi sedimentul, se vor împărţi în două, pentru a fi examinate atît în condiţiuni anaerobe, cît şi în condiţiuni aerobe.

Produsele lichide se centrifughează şi apoi se procedează ca mai sus. Din sedimentele obţinute se fac însămînţări în condiţiuni de aerobioză pe geloză-sînge şi alte medii uzuale. Însămînţările, în condiţiuni de anaerobioză, se efectuează astfel : se încălzeşte produsul 20 de minute, la 80°, pentru a se distruge flora asociată şi se însămînţează pe bulion cu carne prăjită cu ulei de parafină şi pe geloza Veillon.

După 24 de ore :

Se examinează şi se identifică culturile aerobe.

Se examinează culturile anaerobe din care se fac treceri pe geloză Veillon.

Din culturile pure de anaerobi se practică următoarele examene :

Antibiograma.

Identificarea speciei izolate prin neutralizarea toxinei cu antitoxina, după tehnica următoare : se pregătesc loturi de cîte 2 animale pentru fiecare specie de germeni anaerobi. Se inoculează, subcutanat, cîte un amestec de 0,2 ml cultură şi 0,2 ml ser specific unei specii de clostridii. Totodată se inoculează 2 şoareci numai cu suspensia microbiană. În afara celor 2 şoareci, care au primit serul omolog germenului prezent în cultură, toate celelalte animale vor muri.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 13 340	*Oleum paraffini* D=0,890 *purum* . . .	1 500 g
	Bulion glucozat	30 000 g
	Geloză Veillon	10 000 g
	Geloză-sînge	4 000 g
	Materiale pentru 100 de colorații Gram	
	Materiale pentru 100 de colorații albastru de metilen	
	Materiale pentru 100 de colorații pentru spori	
	Materiale pentru 100 de antibiograme	
	Seruri specifice antigangrenoase . . .	500 fiole

n) *Diagnosticul infecţiei tuberculoase*

Infecţia tuberculoasă este produsă de *Mycobacterium tuberculosis*. S-au descris mai multe variante de bacili tuberculoşi : *m. tuberculosis, var. hominis, m. tuberculosis, var. bovis, m. avium*. Sînt bacili mici, neregulaţi, cu extremităţile uşor incurbate, uneori granulaţi. Toţi sînt acidorezistenţi, iar unii sînt şi alcoolorezistenţi. Se dezvoltă greu pe

Scanned with OKEN Scanner

mediile de cultură ceea ce diferenţiază bacilul tuberculozei de bacilii paratuberculoşi, care se dezvoltă uşor pe mediile uzuale. Bacilul tuberculozei este parazit obligatoriu. Contagiunea este de obicei interumană.

Bacilul de tip uman se cultivă uşor pe mediile cu glicerină, în timp ce tipul bovin creşte greu pe aceste medii, de asemenea şi tipul aviar şi murin. Mediul cel mai utilizat pentru cultivarea bacililor tuberculoşi este mediul Löwenstein.

Pe acest mediu, coloniile de *m. avium* apar precoce între 7 şi 12 zile, dînd o masă gleroasă, netedă, cremoasă.

Coloniile de *m. tuberculosis*, tip uman, apar după 10—15 zile, sub formă de puncte albe, care apoi fuzionează, devin neregulate, mate, cu suprafaţă ondulată sau mamelonată. Nu aderă la mediu şi se emulsionează greu.

Coloniile tip bovin apar tardiv după 20—60 de zile. Bacilii paratuberculoşi apar după 48—72 de ore, dau colonii aderente de mediu care se emulsionează uşor.

Diagnosticul bacteriologic

Produse de examinat : spută, spălătură bronşică, lichid cefalorahidian, urină, puroi.

Examen direct : din produse : colorare după metoda Ziehl—Neelsen.

Metoda de omogenizare.

Metoda flotaţiei — Bobrov. La sputa recoltată în 2—3 zile se adaugă un volum egal de hidrat de sodiu 0,5%, agitîndu-se puternic. După omogenizare se introduce în baia de apă la 60 de grade, timp de 30 de minute, agitîndu-se. Se adaugă 50 ml apă şi 2 ml xilol. Se agită puternic, în balon cu gît subţire, completîndu-se apoi cu apă astfel ca să se umple şi gîtul balonului. Se lasă în repaus o oră. Se recoltează cîte o picătură din stratul cremos din gîtul balonului, şi se depune pe lame de sticlă curate şi degresate, încălzite. După uscare se depun alte picături, pînă la epuizarea stratului cremos. Preparatul se degresează cu alcool eter, apoi se colorează după metoda Ziehl—Neelsen.

Însămînţarea pe mediile de cultură.

Sputa de cercetat se omogenizează cu hidrat de sodiu 5—10%, în proporţie de o parte hidrat la 4 părţi spută. Se lasă în contact 15 minute, după care se neutralizează cu acid clorhidric în prezenţa turnesolului. Se centrifughează steril, sedimentul se spală cu ser fiziologic steril, apoi se resuspendă în ser fiziologic steril şi se însămînţează pe mai multe tuburi cu mediul Löwenstein. Tuburile se aşază la termostat în poziţie orizontală, timp de 24 de ore, astfel ca produsul să pătrundă în profunzimea mediului. Tuburile se parafinează şi se incubează apoi în poziţie verticală, urmărindu-se prin control zilnic timp de 3 săptămîni, apoi prin control săptămînal timp de 3—6 luni.

Din culturile pozitive se fac colorații după metoda Ziehl—Neelsen. Se face cercetarea sensibilităţii la antibiotice, testări biochimice şi inoculări la cobai pentru proba de patogenitate.

Metodele serologice nu au intrat în practica curentă a laboratorului clinic.

Scanned with OKEN Scanner

Cercetarea alergiei tuberculoase

Se efectuează cutireacţia von Pirquet.

Se efectuează intradermoreacţia Mantoux.

D. Diagnosticul tuberculozei extrapulmonare.

Tuberculoza renală

Cercetarea bacilului din sedimentul de urină, colorat Ziehl—Neelson.

Însămînţarea sedimentului de urină, tratat cu acid sulfuric 15%, timp de 15 minute, neutralizat cu hidroxid de sodiu 10%, apoi spălat cu ser fiziologic steril. Se însămînţează cîte 0,5 ml pe mai multe tuburi cu mediul Löwenstein, culturile urmărindu-se pînă la 6 luni.

Inocularea la cobai : sedimentul tratat ca mai sus, se resuspendă în ser fiziologic steril şi se inoculează 2 ml subcutanat la cobai.

Tuberculoza intestinală

Căutarea bacilului Koch în fecale.

Metoda Ogawa : se emulsionează 1—2 g fecale, în 10—20 ml soluţie tripaflavină 1%. Se filtrează prin tifon. Se tratează apoi cu acid sulfuric 1%, adăugîndu-se la o parte filtrat 2 părţi acid sulfuric. Se lasă în contact 1 oră. Se centrifughează. Din sediment se fac frotiuri colorate Ziehl—Neelsen, culturi pe Löwenstein şi inoculări la animale.

Cercetarea bacilului Koch în lichidul cefalorahidian

Se efectuează în meningită tuberculoasă.

Se notează aspectul lichidului cefalorahidian, se efectuează examenul citologic (numărătoare pe celula Fux—Rosenthal sau Nageotte), se efectuează examenul chimic (albumină, globuline, dozare a proteinelor totale, glucozei şi clorurilor).

— Se efectuează examenul bacteriologic.

Frotiuri colorate Gram şi Ziehl—Neelsen din sedimentul lichidului cefalorahidian, centrifugat 30 de minute la 5 000 de ture.

Însămînţări pe mediul Löwenstein pentru bacilul Koch şi pe geloză-sînge pentru flora de asociaţie.

Inoculare la 2 cobai.

Cercetarea bacilului Koch în laptele de vacă

50 ml lapte se centrifughează 30 de minute, la 3 000 de ture. Depozitul se tratează cu o cantitate egală de hidroxid de sodiu N/10. Se ţine 30 de minute la termostat. Se neutralizează cu acid clorhidric N/10 în prezenţa turnesolului. Se însămînţează pe mediul Löwenstein.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	100 ml
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	100 g
Cod 16 280	*Tripaflavinum purum*	10 g
	Material pentru 300 de colorații Ziehl-Neelsen	
	Material pentru 300 de colorații Gram	
	Mediul Löwenstein	10 g
	Geloză-sînge	2 000 g
	Tuberculină brută	100 fiole
	Material pentru 100 de antibiograme	

Scanned with OKEN Scanner

o) *Diagnosticul infecţiilor cu micobacterium leprae*

Micobacterium leprae este agentul etiologic al leprei umane. Este parazit obligatoriu. Nu se dezvoltă pe medii de cultură cunoscute. Parazitează specia umană. Este bacil de 1—3/0,2 microni, Gram-pozitiv, imobil, acido- şi alcoolorezistent, cu granulaţii care uneori depăşesc în volum corpul bacilului. La om, produce lepra tuberoasă şi maculoanestezică.

Diagnosticul de laborator

Se cercetează prin coloraţia Ziehl—Neelsen, prezenţa bacilului în mucusul nazal şi în biopsii din leproame.

Cercetarea stării de alergie, se testează prin reacţia Mitsuda: se injectează intradermic o suspensie de leprom, în care bacilii au fost omorîţi prin căldură. Apare o zonă infiltrativă care durează mai multe săptămîni.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Material pentru 500 de coloraţii Ziehl-Neelsen

p) *Diagnosticul de laborator al infecţiilor cu spirochete*

Ordinul spirochetelor cuprinde microorganisme parazite sau saprofite, filamentoase de 6—500 microni lungime, mobile, vizibile la microscop pe fond întunecat.

Borrelia recurrentis

Este agentul etiologic al febrei recurente Obermeyer. Se transmite prin intermediul păduchelui *(pediculus-pediculus)*. Sînt microorganisme cu spire lungi şi neregulate, de 8—10 microni, foarte mobile, Gram-negative. Creşte în intestinul de păduche şi se poate cultiva pe mediul Noguchi.

Diagnostic bacteriologic. Metodele de lucru urmăresc evidenţierea spirochetelor în sînge:

Examinarea plasmei între lamă şi lamelă la microscopul cu fondul întunecat.

Examinarea plasmei după metoda Burri cu tuş de China.

Punerea în evidenţă a spirochetei în picătura groasă de sînge, colorată Giemsa.

Punerea în evidenţă a spirochetelor în frotiuri de sînge colorate Giemsa.

Efectuarea de reacţii serologice pentru cercetarea anticorpilor aglutinanţi cu antigeni preparaţi din culturi de *borrelia* şi efectuarea R.F.C. cu antigen *borrelia*.

Efectuarea diagnosticului biologic prin inoculare de sînge intraperitoneal la şoarece.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Material pentru 200 de colorații Giemsa
Material pentru 100 de colorații cu fucsină bazică
Material pentru 100 de examene cu metoda Burri.

Treponema pallidum

— *Treponema pallidum* este agentul etiologic al sifilisului. Treponemele au o lungime de 6—15/0,1 microni, sînt mobile, avînd mișcări de flexiune, translație și rotire. Se colorează prin metoda Giemsa și Fontana.

Diagnosticul bacteriologic

Produse de cercetat : exsudate din leziuni sifilitice, sînge, lichidul cefalorahidian.

Examen direct : se face examenul între lamă și lamelă pe fondul întunecat, din exsudatele leziunilor.

Se efectuează preparate cu metoda Burri.

Se efectuează preparate colorate cu metoda Giemsa : frotiurile se fixează 5 minute cu alcool metilic, apoi lamele se introduc în băi Laveran, cu soluție Giemsa (3 picături Giemsa la 2 ml apă) și se lasă 24 de ore. Se spală și se examinează cu imersie.

Se efectuează impregnația argentică cu metoda Fontana.

Testul biologic : se inoculează intratesticular la iepure produsele recoltate din leziuni sifilitice. După 2—6 săptămîni, animalul face orhită sifilitică. Se fac treceri pe șoareci albi pentru a se face diferențierea de Tr. cuniculi.

Examene serologice.

Se efectuează : Reacția Bordet-Wassermann cu antigen Bordet-Rouelens, r. Bordet-Wassermann cu antigen cardiolipinic, r. Levaditi-Latapie, r. Meinicke II, r. Kahn, r. Citocol (vezi reacții de fixare a complementului și de floculare).

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 2 419 +)	*Alcohol methylicus* pt. a.	500 ml
Cod 19 090	*China Tusche pentru*	100 de colorații
	Material pentru 100 de impregnații, metoda Fontana	
	Colorant Giemsa pentru 100 de colorații	
	Material pentru 100 de r. Bordet-Wassermann	
	Material pentru 100 de r. Citocol	
	Material pentru 100 r. Meinicke	
	Material pentru 10 r. Kahn	

Leptospira

Leptospirele apar în preparatul vital ca filamente subțiri, foarte mobile, cu spirele strînse, cu capetele îndoite. Execută mișcări de

Scanned with OKEN Scanner

flexiune, translație și rotație în jurul axei. Au 6—40/0,12 microni, fiind ultrafiltrabile. Se cultivă în condiții de aerobioză la 37 de grade pe mediul Noguchi.

Diagnosticul bacteriologic

Produse de cercetat: în prima săptămînă de boală : sîngele și lichidul cefalorahidian.

În a doua săptămînă : sîngele, urina și lichidul cefalorahidian.

Organe : ficat, rinichi, recoltate la autopsie.

Examenul la microscop pe fond întunecat:

Sîngele (în primele 6 zile). Se recoltează 4—5 ml sînge pe 0,5 ml oxalat de potasiu 1%. Se lasă la 25°—30° pînă se sedimentează hematiile, apoi se recoltează picături din supernatant care se examinează pe fond întunecat. Se observă mișcarea de răsucire în jurul axului, caracteristică pentru leptospire.

Urina. Se recoltează după ziua a 8-a, se administrează în prealabil bicarbonat de sodiu pentru alcalinizare. Se centrifughează 1—2 ore, la 3 000 de ture. Se examinează sedimentul.

Organele: se triturează în mojar, apoi se emulsionează ser fiziologic : 5 ml ser fiziologic la 3 g organe. După 30—60 de minute se examinează pe fond întunecat.

Frotiuri colorate. Se execută frotiuri din materialele preparate ca la punctul a. Se colorează cu Giemsa, 30 de minute la 37° sau se impregnează după metoda Fontana.

Culturi

Pe mediul Uhlenhuth : apă de robinet sterilă + ser inactivat de iepure 15%.

Pe mediul Korthof : peptonă Witte 0,8 g, natriu clorat 1,4 g, natriu bicarbonat 0,02 g, kaliu clorat 0,04 g, calciu clorat 0,04 g, fosfat monopotasic 0,18 g, fosfat disodic 0,96 g și apă 1 000 ml. Se dizolvă ingredientele și se filtrează. Se sterilizează 30 de minute la 1 atmosferă. Se filtrează și se ajustează pH-ul la 7,2—7,4. Se resterilizează 30 de minute la 1/2 de atmosferă. Se adaugă ser inactivat de iepure 5—10%. Se tindalizează 3 zile, cîte 1 oră, la 60°. Se repartizează 3—5 ml. Se controlează sterilitatea la 37°.

Produsele se însămînțează imediat, se incubează la 28° și 37°, se controlează din 5 în 5 zile creșterea germenilor, efectuîndu-se preparate între lamă și lamelă.

Test biologic : se inoculează lichid cefalorahidian, urină, sînge, în cantitate de 10 ml la iepure, 5 ml la cobai și 1 ml la șoarece intraperitoneal.

Reacții serologice

Reacția de aglutinare-liză : se practică numai în laboratoare de specialitate.

R.F.C. cu antigenul *leptospira biflexa Patoc* (vezi reacțiile de fixare a complementului).

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 5 023	*Calcium carbonicum* p. a.	0,50 g
Cod 9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p.a.	0,50 g
Cod 11 741	*Natrium bicarbonicum* p. a.	0,50 g
Cod 11 760	*Natrium phosphoricum bibasicum Sörensen* p. a.	0,50 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	1,8 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	1 g
Cod 19 090	*China Tusche*	50 ml
	Material pentru 100 de impregnări Fontana	
	Colorant Giemsa pentru 300 de examene	
	Antigen leptospira biflexa Patoc pentru 100 R.F.C.	
	Ser hemolitic pentru R.F.C.	20 fiole

r) *Diagnosticul infecţiilor cu rickettsia*

Germenii din acest gen sînt microorganisme intermediare, între bacterii şi virusuri. Nu se dezvoltă pe mediile artificiale. Se dezvoltă numai în tubul digestiv al artropodelor.

Rickettsiile produc la om febrele exantematice, care se trasmit la om de obicei prin artropode vectoare.

Diagnosticul bacteriologic. Inocularea produselor de cercetat se poate executa în orice laborator. Izolarea şi identificarea germenilor se fac numai în laboratoare special amenajate.

Produse de cercetat

Sînge de bolnav : se recoltează în ziua a IV-a pînă la a V-a de boală şi se inoculează la cobai intraperitoneal, imediat după recoltare.

Alte produse : lapte, urină, ţesuturi, se vor inocula după adăugare de penicilină 5 000 unităţi pe mililitru şi lăsarea în contact cu produsele de cercetat timp de 30 de minute.

Inocularea de la artropode : se dezinfectează vectorii capturaţi (păduchi, ploşniţe, căpuşe) într-o baie de eter. Se spală cu ser fiziologic steril de 2—3 ori. Se triturează în mojar steril, cîte 10—50 exemplare. Se suspendă în 10—15 ml ser fiziologic steril şi se inoculează 1—3 ml suspensie la cobai.

Animalele inoculate se introduc în cuşti speciale şi se transportă prin curier la laboratoarele pentru Rickettsioze.

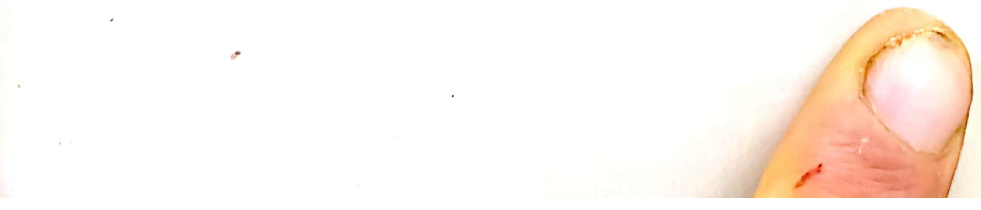
Diagnosticul serologic pentru tifosul exantematic

Se efectuează reacţia Kudicke-Steuer.

Se efectuează reacţia Weil-Felix.

Se efectuează R.F.C. pentru R. Prowazecki (vezi reacţii de aglutinare şi R.F.C.).

Pentru alte rickettsioze, se va trimite serul de cercetat, decantat la Inst. „Dr. I. Cantacuzino".



Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Materiale pentru 100 de reacţii Weil-Felix
Materiale pentru 100 de reacţii Kudicke-Steuer
Materiale pentru 100 de R.F.C. reacţii Prowazecki

4. DETERMINAREA SENSIBILITĂŢII GERMENILOR LA ANTIBIOTICE (ANTIBIOGRAMA)

Antibiograma este utilă pentru indicarea şi controlul tratamentului cu antibiotice. Tehnica antibiogramei se bazează pe faptul că antibioticele produc *in vitro*, inhibiţia dezvoltării unor germeni.

Antibiograma se va efectua numai pe tulpini izolate şi identificate ca patogene. Antibiogramele efectuate pe floră globală (spută) nu au valoare ştiinţifică sau practică.

a) *Metoda cantitativă pe mediile lichide*

Materiale necesare

Mediul de cultură. Apă peptonată 2%, glucozată 1%; pentru streptococ, pneumococ şi brucelă se adaugă 10—15% lichide organice.

Diluţii de antibiotice: penicilină 100 u/ml, streptomicină 100 γ/ml, cloramfenicol 10 γ/ml, tetraciclină 10 γ/ml, nitrofuran 10 γ/ml, sulfamide 100 γ/ml.

Cultură microbiană de 24 de ore în bulion glucozat, din care se face o diluţie 1/10 în ser fiziologic steril.

Tehnică. Testarea se face într-o serie de 11 eprubete plus un martor. În fiecare eprubetă se introduce cîte 0,5 ml mediu nutritiv. Se adaugă apoi în primul tub 0,5 ml din diluţia de antibiotic, se amestecă cu mediul şi se scot 0,5 ml de amestec, care se adaugă în tubul al doilea ş.a.m.d. Din tubul nr. 11 se aruncă 0,5 ml. Se adaugă cîte o picătură de cultură diluată 1/10, în fiecare tub. După ce se face pentru fiecare antibiotic cîte o scară de diluţie ca mai sus, se incubează la 37 de grade, timp de 24 de ore. Se citeşte testul, notîndu-se ultimul tub limpede.

b) *Metoda difuzimetrică pentru germeni aerobi*

Metoda rondelelor

Metoda rondelelor de hîrtie impregnate în antibiotice.

Tehnică. Într-o cutie Petri, se toarnă 20 ml de geloză Chabert sau geloză simplă 2%. După răcire, se însămînţează 0,5 ml suspensie microbiană de testat, din cultură de 24 de ore în bulion. Suspensia se întinde pe toată suprafaţa mediului prin înclinarea cutiei Petri. Se absoarbe apoi cu o pipetă Pasteur excesul de inocul. Cutiile însămînţate se introduc la termostat 37 de grade, 1 oră pentru uscare, cu capacul întredeschis. Se depun apoi pe suprafaţa mediului, rondele de hîrtie de filtru impregnate în antibiotice. Se incubează la termostat 17—24 de ore. Se măsoară diametrul de inhibiţie (inclusiv rondelele), apreciindu-se activitatea antibioticelor astfel :

Scanned with OKEN Scanner

— inhibiție de 15—25 mm și peste = f. sensibil
— inhibiție de 16—20 mm = sensibil
— inhibiție sub 10 mm = insensibil

Prepararea mediului Chabert. La 1 000 g macerat de carne, se adaugă 2 g fosfat disodic, 3 g natriu clorat, 1 g glucoză și 25 g agar-agar. Se topește. Se răcește la 45 de grade și se adaugă steril hematii de cal hemolizate, în proporție de 10%. Hematiile de cal se prepară, luîndu-se 1 ml hematii defibrinate, la 4 ml apă distilată.

Prepararea rondelelor de hîrtie de filtru. Se confecționează rondele de hîrtie de filtru de 7—10 mm (cu perforatorul de hîrtie). Se sterilizează la 120 de grade 15 minute. Se prepară diluții de antibiotice, din care se adaugă cîte 0,01 ml pe fiecare rondelă. Practic se calculează cantitatea de antibiotic, necesară pentru numărul de rondele care dorim să pregătim, apoi se îmbibă acestea în diluțiile de antibiotic, se presează pe peretele eprubetei pentru îndepărtarea excesului și se usucă apoi în cutii Petri sterile la termostat. Se păstrează în tuburi parafinate timp de 6 luni. Diluțiile de antibiotic utilizate : aureociclina 5 γ/ml, cloramfenicol 10 γ/ml, penicilină 0,5 γ/ml, streptomicină 10 γ/ml, teramicină 5 γ/ml, hostaciclină 5 γ/ml, eritromicină 0,5 γ/ml.

Metoda pulberilor

În locul rondelelor de hîrtie de filtru se pot utiliza diluții de antibiotice în amidon steril, adăugîndu-se cîte un vîrf de spatulă din aceste pulberi (o grămadă de 2—3 mm). Citirea se va face ca și în cazul rondelelor.

Prepararea diluțiilor de pulberi de antibiotice. Amidonul, se sterilizează prin căldură uscată la etuvă, cîte 30 de minute, la 60 de grade, în 3 zile consecutive.

Prepararea diluțiilor se face astfel :

— Penicilina. 1 000 de unități de penicilină la 1 gram pulbere amidon : se ia un flacon de 200 000 u. penicilină și se mojarează cu 10 g amidon timp de 30 de minute. Din acest amestec se ia un gram pulbere, care se amestecă cu 9 g amidon și se mojarează 30 de minute.

Se prepară apoi diluția de lucru, luînd părți egale din ultimul amestec și pulberea de amidon.

— Streptomicina se utilizează în diluție de 5 mg la 1 g pulbere de amidon. Pentru prepararea acestei diluții, se ia 1 g streptomicină și se amestecă cu 9 g pulbere de amidon. Din acest amestec se ia 1 g și se amestecă tot cu 9 g amidon. Din acest amestec se prepară diluția de lucru, luîndu-se părți egale din ultimul amestec și pulbere de amidon.

— Tetraciclinele se utilizează în diluție de 5 mg la 1 g pulbere de amidon. Se amestecă 250 mg (un drajeu) de substanță și 5 g amidon. Diluția de lucru se prepară luîndu-se 1 g din acest amestec și diluîndu-se cu 9 g pulbere de amidon.

Scanned with OKEN Scanner

— Nitrofuranul se utilizează în diluţie de 2,5 mg la 1 g pulbere de amidon. Se amestecă 0,25 g nitrofuran cu 5 g amidon. Din acest amestec se ia 1 g şi se diluează cu 9 g amidon. Diluţia de lucru se obţine amestecîndu-se părţi egale din ultima diluţie şi pulbere de amidon.

— Eritromicina se utilizează în diluţie de 5 mg la 1 g pulbere. Se amestecă în mojar 1 tabletă (100 mg) eritromicină cu 20 g pulbere de amidon şi se obţine diluţia de lucru.

Notă : Fiecare diluţie se mojarează 30 de minute în mojar steril.

c) *Efectuarea antibiogramei în condiţii de anaerobioză*

Se efectuează antibiograma ca şi pentru germenii aerobi, plăcile de testat, introducîndu-se în aparate de vid.

Metoda difuzimetrică în cutii Petri cu capacul întors.

Se utilizează rondele de hîrtie îmbibate cu antibiotice şi mediul de cultură următor : bulion V.F. 100 ml, geloză 2 g, acid tioglicolic 0,06 g.

Tehnică. Pe fundul întors al unei cutii Petri se fixează rondele de hîrtie de filtru cu antibiotice, lipindu-le într-o picătură de geloză caldă. Se însămînţează 0,5 ml din cultura de testat într-o eprubetă cu 50 ml mediu topit şi răcit la 60° şi se omogenizează prin rotirea eprubetei. Se toarnă apoi conţinutul într-un capac de cutie Petri. Se aplică apoi cutia Petri cu rondelele pregătite anterior, peste mediul încă topit, astfel ca să nu cuprindă bule de gaz. După răcire se incubează la 37 de grade şi se citesc rezultatele după 24 de ore.

Metoda difuzimetrică în tuburi. Se utilizează tuburile Weinberg. Se umple jumătate de tub Weinberg cu suspensie de germeni de testat în geloză ficat. Se răcesc tuburile la curent de apă, apoi se depune în fiecare tub cîte o rondelă îmbibată în antibiotice. Se toarnă apoi suspensia microbiană în geloză-ficat, pînă se umplu tuburile, apoi se răcesc la apă şi se incubează la 37 de grade. Rezultatele se citesc după 24—48 de ore.

Reactivi necesari (pentru 100 de antibiograme)

Cod 3 210 A	*Amylum solubile* p. a.	500 g
	Geloză Cabert	4 000 g
	Geloză-ficat	4 000 g
	Penicilină 200 000 u.	1 flacon
	Streptomicină 1 g	1 flacon
	Cloramfenicol	1 000 mg
	Aureociclină	1 000 mg
	Eritromicină	200 mg
	Nitrofuran	1 g
	Sulfatiazol	1 g

d) *Determinarea sensibilității bacilului Koch la antibiotice*

Testarea pe medii solide : se incorporează în mediul Löwenstein antibioticele uzuale.

Se fac pentru fiecare antibiotic 2 diluții, conform tabelului de mai jos.

	Unități pe mililitru	
Streptomicină	2	10
H. I. N.	0,2	1
P. A. S.	1	10
— Cicloserină	25 γ/ml	
— Trecator	20 γ/ml	
— Viomicină	10 γ/ml	
— R. 106	0,2 — 1 γ/ml	
— Amestec streptomicină	10 γ + HIN 1 γ	

Se repartizează mediile cu antibiotice în tuburi, coagulîndu-se înclinat. Mediile se însămînțează cu bacili din cultură. Se pot face și însămînțări din produsul direct, dacă este bogat în germeni, după distrugerea florei asociate.

Tuburile se incubează în poziție orizontală 24 de ore, ca inoculul să poată pătrunde în mediul de cultură, apoi se parafinează, se incubează vertical, și se urmăresc 3—4 săptămîni pînă la 3 luni.

Determinarea sensibilității bacilului Koch la antibiotice

Reactivi necesari (pentru 100 de testări)

Mediul Löwenstein	12 000 g
Streptomicină	2 g
P.A.S.	2 g
Hidrazida I.N.	2 g
Cicloserină	2 g
Trecator	2 g
Viomicină	2 g
R. 106	2 g

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL al IV-lea

EXAMENE HEMATOLOGICE

Scanned with OKEN Scanner

EXAMENE HEMATOLOGICE

I. EXAMENE MORFOLOGICE

Pag.

A. *Recoltarea sîngelui periferic pentru examene morfologice* . . . 231

1. Recoltarea sîngelui capilar, în picătură, prin înţepare . . 231
2. Recoltarea sîngelui venos, prin puncţie venoasă 232
3. Soluţii stabilizatoare 232

B. *Explorarea morfofuncţională a elementelor figurate sanguine*
Eritrocitul 233

1. Examenul postvital al eritrocitului 233
2. Numărătoarea eritrocitelor 233
3. Rezistenţa globulară 235
4. Dozarea hemoglobinei 236

a) Metoda Sahli 236
b) Metoda Philipps—van Slyke (modificată) 236
c) Dozarea fotometrică a hemoglobinei (Heilmeyer) . . . 237
d) Determinarea hemoglobinei alcalinorezistente 237

5. Determinarea volumului eritrocitar (hematocritul) 238
6. Viteza de sedimentare a eritrocitelor (Westergreen) . . . 239
7. Examenul morfologic al eritrocitelor 239
8. Punerea în evidenţă a reticulocitelor 239

Leucocitul 240

1. Numărătoarea leucocitelor 240
2. Numărătoarea diferenţială a eozinofilelor 241
3. Examenul morfologic leucocitar 242

a) Executarea frotiului de sînge 242
b) Prepararea soluţiilor colorante 242
c) Fixarea şi colorarea frotiului 243
d) Efectuarea formulei leucocitare 244
e) Formula nucleară (Arneth) 245

4. Examene histochimice 245

Punerea în evidenţă a fermenţilor 245

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

a) Reacţia oxidazelor (Schultze) 245
b) Reacţia peroxidazelor (Sato) 246

Punerea în evidenţă a grăsimilor

a) Metoda cu Sudan III 246
b) Metoda cu acid osmic 247

Punerea în evidenţă a glicogenului

Metoda acidului periodic 247

Punerea în evidenţă a fosfatazei alcaline

Metoda cu substrat-tampon 248

Trombocitul

1. Numărarea trombocitelor 250
   a) Metoda indirectă (Fonio) 250
   b) Metoda directă (Ress-Ecker) 250
   c) Metoda directă (Cazal) 251
2. Examenul morfologic şi aglutinabilitatea trombocitelor . . 251

C. *Organe hematopoietice*

Măduva osoasă 252
1. *Puncţia osoasă* 252
   a) Puncţia medulară 252
   b) Puncţia sternală 252
   c) Puncţia crestei iliace 252
   d) Puncţia platoului tibial 252
2. Fixarea şi colorarea frotiului 253
3. Numărătoarea elementelor nucleate medulare 253
4. Examenul morfologic al elementelor medulare 253
5. Mielograma 254
6. Megacariograma 256

Splina 256
Puncţia splenică. Splenograma 256
Ganglionul limfatic 257
Puncţia ganglionară. Adenograma 257
Ficatul 258
Puncţia hepatică. Hepatograma 258

II. EXPLORAREA COAGULĂRII SÎNGELUI

A. *Noţiuni generale de tehnică* 259

B. *Explorarea coagulabilităţii totale a sîngelui* 260
1. Timpul de coagulare a sîngelui integral 260
   a) *Determinarea timpului de coagulare a sîngelui capilar* . 260
   b) *Determinarea timpului de coagulare a sîngelui venos* . 260
2. Retracţia cheagului 261

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

a) *Metoda celor două eprubete* 261
b) *Metoda Hirschboeck* 261
c) *Metoda Macfarlane* 261
3. Timpul de coagulare a plasmei recalcifiate (Howel) . . . 262
4. Testul de toleranță la heparină 262

C. *Explorarea primei faze a coagulării* 263

1. Consumul de protrombină 263
2. Generarea tromboplastinei (Biggs și Douglas) 265
3. Corectarea timpului de recalcifiere 266
4. Dozarea factorilor antihemofilici A și B 268

D. *Explorarea fazei a doua a coagulării* 269

1. Timpul de protrombină (Quick) 269
2. Determinarea specifică a protrombinei într-un timp (Owren) 270
3. Determinarea complexului protrombină-proconvertină (Owren) 270
4. Determinarea factorului V (proaccelerina) (Owren-Koller) . 271
5. Determinarea factorului VII (proconvertina) 272

E. *Explorarea fazei a treia a coagulării* 272

1. Determinarea cantitativă a fibrinogenului (Leroux) . . . 272
2. Explorarea fibrinolizei (Macfarlane-Biggs) 273
3. Determinarea timpului de sîngerare 274

III. **IMUNOLOGIE SANGUINĂ**

A. *Aglutinogene eritrocitare* 274

1. Determinarea antigenilor O.A.B. (Beth-Vincent) 274
2. Determinarea factorului Rh_0 (D) pe lamă cu ser test. și eritrocite papainate (van Loghem-Fotino) 275
3. Determinarea factorului Rh_0 (D) pe lamă cu ser test. și eritrocite nepapainate 276

B. *Aglutinine serice* (anticorpi)

1. Determinarea aglutininelor anti-A (α) și anti-B (β) (Simonin) 277
2. Determinarea anticorpilor anti-Rh_0 (D) pe lamă cu eritrocite papainate 277
3. Titrarea anticorpilor anti-Rh_0 (D) din ser sanguin 278
   a) în mediul salin 278
   b) în mediul albuminos 278
4. Determinarea autoaglutinării prin anticorpi incompleți în mediu albuminos 279
5. Titrarea anticorpilor incompleți în mediu albuminos . . . 280
6. Testul antiglobulinic (Coombs-Mourant-Race) 280
   a) Testul antiglobulinic direct 281
   b) Testul antiglobulinic indirect 281

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

7. Determinarea calitativă a anticorpilor anti-Rh_0 (D) din ser (lapte) 281
8. Titrarea anticorpilor anti-Rh_0 (D) din ser (lapte) 282
9. Determinarea anticorpilor antileucocitari (Dausset) 282

C. *Compatibilitatea serologică în transfuzii*

1. Proba de compatibilitate directă (majoră) (Jeanbrau) . . . 283
2. Proba de compatibilitate inversă (minoră) 283

IV. **TEHNICA SILICONĂRII MATERIALULUI DE LABORATOR** (I. Popa)

1. Siliconarea sticlăriei de laborator 284
   a) Curățirea 284
   b) Ungerea cu substanță siliconată și uscarea 284
   c) Coacerea 284
2. Siliconarea acelor de puncție venoasă 285
3. Siliconarea cu „Imprägniermittel WS 60“ 285

I. EXAMENE MORFOLOGICE

A. RECOLTAREA SÎNGELUI PERIFERIC PENTRU EXAMENE MORFOLOGICE

1. RECOLTAREA SÎNGELUI CAPILAR, ÎN PICĂTURĂ, PRIN ÎNȚEPARE *

(Pentru examene morfologice extemporanee)

Reactivi : eter sulfuric sau alcool rectificat.

Condiţii de recoltare : dimineaţa, pe nemîncate. În cazuri speciale şi la alte ore însă în afara orelor de digestie. Pacientul va fi odihnit, netranspirat ; la femei, în afara perioadei menstruale. Urgenţele fac excepţie de la aceste indicaţii.

Locul de elecţie : pulpa degetului (adult) în părţile laterale ale primei falange ; faţa plantară a degetului mare de la picior (copilul mic şi sugar) ; lobulul urechii, în cazurile cînd nu este posibil să se utilizeze regiunile indicate sau pentru examene speciale.

Se va ţine seamă ca temperatura, coloraţia şi consistenţa tegumentelor să fie normale.

Tehnica recoltării. Se masează uşor regiunea aleasă, se degresează cu un tampon de vată îmbibat în eter sau alcool şi se aşteaptă evaporarea. Se puncţionează pielea cu acul, suficient de adînc, pentru a permite ieşirea unei picături mari de sînge fără presiune. Prima picătură se suge cu vată sau hîrtie de filtru. Se recoltează cea de a doua picătură, fără presiune, după ce a fost bine constituită, cu rapiditate şi înainte de a începe procesul de coagulare. După prelevarea sîngelui, locul puncţiei se tamponează cu un tampon de vată îmbibat în eter sau alcool (acelaşi, utilizat la începutul tehnicii).

Reactivi necesari (pentru 100 de recoltări)

Cod	1 770	*Aether aethylicus* p. a.	40 ml
		sau	
Cod	2 333 +)	*Alcohol aethylicus* 90° *purificat* . . .	40 ml

Cantităţile de mai sus vor fi necesare la fiecare din examenele necesitînd sînge capilar.

* Pentru examene speciale, a se vedea la tehnica respectivă.

Scanned with OKEN Scanner

2. RECOLTAREA SÎNGELUI VENOS, PRIN PUNCȚIE VENOASĂ (STABILIZAT)

(Pentru examene morfologice tardive)

Reactivi : alcool rectificat sau eter sulfuric ; soluții stabilizatoare și anticoagulante.

Condiții de recoltare : identice ca la recoltarea sîngelui capilar.

Locul de elecție. Venele plicii cotului (vena cubitală), venele superficiale ale altor regiuni, mai ușor de abordat, vena jugulară (copii mici, sugari).

Tehnica recoltării. Identică oricărei puncții venoase. Recoltarea se va face rapid pentru a nu se produce coaguli. Sîngele recoltat se transvazează în eprubete (flacoane) cu stabilizator și se omogenizează cu acesta imediat. Pentru examen morfologic se recomandă a se face frotiuri, imediat după recoltare. Utilizarea produsului, în vederea examenelor, se efectuează numai după o agitare timp de 1—2 minute, pentru resuspendarea elementelor sanguine. Soluția stabilizatoare se poate aspira în prealabil în seringă, în cazul unor probe de laborator (V.S.H. etc.).

Păstrarea produsului recoltat. La temperatură scăzută.

Reactivi necesari

Cod 1 770 *Aether aethylicus* p. a. . . . . 60 ml

sau

Cod 2 333 +) *Alcohol aethylicus* 90° *purificat* . . . 40 ml

Cantitățile de mai sus vor fi necesare la fiecare din examenele necesitînd sînge venos.

3. SOLUȚII STABILIZATOARE

Soluțiile stabilizatoare utilizate în practica curentă sînt : citrat trisodic (în soluție de 3,8%), oxalat de sodiu sau potasiu, oxalat de amoniu, heparina, fluorura de sodiu etc.

— **Soluția de citrat trisodic** 3,8 g, în 100 ml apă distilată.

— **Oxalatul de sodiu,** de potasiu sau de amoniu se pot utiliza ca substanțe pure puse în eprubete în care se transvazează sîngele (cîteva cristale) sau ca soluție după următoarea formulă :

Soluția Wintrobe

Oxalat de potasiu	0,8 g (2 g)
Oxalat de amoniu	1,2 g (3 g)
Apă distilată	100 ml

Se pun în flacoane 0,5 ml (0,2 ml) din această soluție și se introduc la termostat (+ 37°) pentru uscare. Reziduul uscat, rămas pe pereții flaconului, asigură incoagulabilitatea a 5 ml sînge.

— **Heparina** necesară pentru stabilizarea sîngelui în vederea determinării hematocritului se utilizează diluată 1/2 (fiole a 1 ml=5 000 unități), repartizîndu-se în fiecare flacon cîte 3—4 picături din această soluție. Lichidul se întinde, prin clătire, pe pereții flaconului după care

Scanned with OKEN Scanner

flacoanele sînt puse spre uscare la termostat (+37°). Reziduul uscat, rămas pe pereții flaconului, asigură incoagulabilitatea a 2 ml sînge timp de 12 ore.

Reactivi necesari (pentru 100 de probe recoltate)

Cod 3 022 a	*Ammonium oxalicum* p. a.	3 g
Cod 9 753 +)	*Kalium oxalicum* p. a.	2 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	2 g
	Heparină 5 000 u. (hematocrit) . . .	4 fiole

B. EXPLORAREA MORFOFUNCȚIONALĂ A ELEMENTELOR FIGURATE SANGUINE

ERITROCITUL

1. EXAMENUL POSTVITAL AL ERITROCITULUI

(Între lamă și lamelă, imediat după recoltare)

Reactivi : parafină solidă ; alcool rectificat ; eter sulfuric.

Tehnică. Sîngele necesar examenului se recoltează prin metoda înțepării (pag. 231). Prima picătură de sînge se prinde de fața inferioară a unei lamele. Lamela se așază rapid pe lamă și se examinează imediat la microscop. În cazul cînd este necesar să se urmărească preparatul mai multe ore, cu o spatulă se lutează lamela pe margini cu parafină (cu punct de topire la 56°). Această metodă servește pentru studiul eritrocitelor ferite de alterările determinate de fixare sau colorare.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 13 659	*Paraffinum albiss. 56° purum* . . .	10 g

2. NUMĂRĂTOAREA ERITROCITELOR

Reactivi : lichide de diluție (Hayem, Marcano, Withby) ; alcool rectificat sau eter sulfuric.

Lichide de diluție

Soluția Hayem

Clorură de sodiu pt. a.	1 g
Sulfat de sodiu pt. a.	5 g
Sublimat corosiv	0,5 g
Apă distilată	200 ml

După pregătire se filtrează

Scanned with OKEN Scanner

Soluția Marcano

Sulfat de sodiu pt. a.	5 g
Formol 40%	1 ml
Albastru de metilen	0,1 g
Apă distilată	100 ml

După pregătire se filtrează

Soluția Withby

Clorură de sodiu	0,6 g
Citrat de sodiu	1 g
Formol 40%	1 ml
Apă distilată	97,4 ml

Soluțiile se înflaconează în flacoane tip penicilină cu dop de cauciuc.

Tehnică. Sîngele necesar examenului se recoltează prin metoda înțepării. După înlăturarea cu hîrtie de filtru a primei picături, se recoltează cu pipeta Potain de globule roșii, o cantitate de sînge pînă la diviziunea 0,5 sau 1. Citirea diviziunii se face ținînd pipeta în poziție verticală. Dacă s-a aspirat sînge peste diviziune, se îndepărtează surplusul prin atingerea vîrfului pipetei cu hîrtie de filtru sau burete de material plastic. Suprafața externă se șterge de asemenea cu hîrtie de filtru, în cazul cînd s-a murdărit cu sînge. Se aspiră lichidul de diluție pînă la diviziunea 101 (umplerea completă, fără bule de aer a camerei de diluție a pipetei) și se omogenizează, după detașarea tubului de cauciuc, prin agitare orizontală, ținînd în acest scop pipeta între policele și mediusul mîinii drepte timp de o jumătate de minut, apoi prin rotire în jurul axei sale. Pînă la numărare, pipeta se ține în poziție orizontală, pe o suprafață plană pentru a evita scurgerea conținutului. În timpul verii, dacă numărarea se face peste cîteva ore, pipeta se conservă la frigider. La utilizare, omogenizăm timp de 3—5 minute, după tehnica indicată. Umplerea camerei de numărat se efectuează după fixarea în bune condiții a lamelei pe suprafețele laterale ale camerei (apariția inelelor lui Newton). În acest scop se elimină din pipetă, prin suflare, o primă picătură, următoarea depunîndu-se pe marginea camerei, așa fel încît lichidul să pătrundă în interior prin capilaritate. În cazul cînd se constată că lamela a fost deplasată de lichid, se șterge camera și se repetă umplerea. Numărarea se efectuează la microscop cu obiectivul 7, după 2—3 minute de la umplerea camerei (timp necesar sedimentării hematiilor) pe 5 pătrate mari (80 de pătrățele mici), echivalînd cu o suprafață de 0,2 mm^2. Numărul găsit se multiplică cu 5 (pentru a se stabili numărul eritrocitelor pe 400 de pătrate=1 mm^2); apoi cu 10 (pentru a se stabili numărul eritrocitelor pe mm^3); apoi cu diluția (100 pentru diviziunea 1 sau 200 pentru diviziunea 0,5). Formula de calcul simplificată este :

— pentru diluția 1/200 (diviziunea 0,5 a pipetei)

X (număr eritrocite) = n (număr eritrocite citit pe 80 pătrățele) × 10 000

— pentru diluția 1/100 (diviziunea 1 a pipetei)

$X = n \times 5\,000$.

Cifre normale :

— bărbat : 4 000 000—5 000 000 eritrocite/mm^3 ;

— femeie : 4 000 000—4 500 000 eritrocite/mm^3 ;

— nou-născut : 6 000 000 eritrocite/mm^3 (pînă la a 10-a zi de la naștere).

Pregătirea pipetelor Potain. Pipetele Potain, după întrebuinţare, se spală de mai multe ori cu apă distilată, se clătesc de 2—3 ori cu alcool 96° şi se usucă prin umplere de 2—3 ori cu eter. Aceste manevre se efectuează cu ajutorul trompei de vid. Spălarea corectă se verifică prin aspectul camerei de diluţie care trebuie să fie perfect uscată, cu perla mobilă în toate direcţiile şi cu pereţii perfect transparenţi. După o perioadă de folosire, pipetele vor trebui supuse acţiunii amestecului oxidant sulfocromic.

După supunerea la acţiunea amestecului sulfocromic, pipetele se lasă timp de 24 de ore la curent de apă, apoi se clătesc cu apă distilată, după care se usucă după procedeul arătat mai sus.

Amestecul sulfocromic poate fi înlocuit cu o soluţie fierbinte de detergent tip Alba super (500 g la 5 litri apă).

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Soluţia Hayem

Cod 8 716 +)	*Hydrargyrum bichloratum* pt. a. . . .	0,25 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	0,50 g
Cod 12 355	*Natrium sulfuricum anhydricum* p. a.	2,50 g

Soluţia Marcano

Cod 7 807	*Formaldehydum 40% purum*	1 ml
Cod 12 355	*Natrium sulfuricum anhydricum* p. a.	5 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	0,1 g

Soluţia Withby

Cod 7 807	*Formaldehydum 40% purum* . . .	1 ml
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	0,6 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	1 g

3. REZISTENŢA GLOBULARĂ

Reactivi: soluţie clorurosodică (7‰); alcool rectificat sau eter sulfuric.

Tehnică. Se pipetează de la stînga la dreapta 34, 33, 32... picături soluţie de clorură de sodiu 7‰ şi de la dreapta la stînga 34, 33, 32... 1 picături apă distilată; rezultă astfel concentraţii crescînde de soluţie NaCl de la stînga la dreapta. În fiecare eprubetă se pune imediat cîte o picătură de eritrocite de cercetat (sînge venos integral nestabilizat). Stativul se lasă la termostat la 37° timp de o oră (sau la temperatura camerei, timp de 24 de ore) după care se efectuează citirea notîndu-se primul tub în care începe hemoliza (lichidul supernatant galben) şi primul tub în care hemoliza este totală (depozitul eritrocitar din fundul eprubetei dispărut şi lichidul supernatant roşu deschis clar).

Rezultate. Normal, hemoliza începe la concentraţia 4,4—4,6‰ (eprubeta 7—8) şi este totală la concentraţia de 3,2—3,4‰ (eprubete 12—14).

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	17,50 g

Scanned with OKEN Scanner

4. DOZAREA HEMOGLOBINEI

a) *Metoda Sahli*

Reactivi : soluţie N/10 acid clorhidric ; alcool rectificat ; eter sulfuric.

Tehnică. Se încarcă eprubeta hemoglobinometrului cu soluţie HCl N/10 pînă la diviziunea 10. Se recoltează cu pipeta o picătură de sînge pînă la diviziunea indicată (20 mm^3), cu aceleaşi precauţii ca şi la recoltarea sîngelui pentru numărarea eritrocitelor. Se şterge excesul de sînge din exteriorul pipetei. Se controlează dacă sîngele aspirat nu prezintă bule de aer. În caz contrar, se repetă recoltarea cu o pipetă curată. Se toarnă conţinutul în eprubetă, se omogenizează şi se lasă amestecul în repaus 10 minute *, timp necesar formării clorhidratului de hematină. Se adaugă apoi cu pipeta Pasteur apă distilată, amestecîndu-se cu bagheta de sticlă, pînă cînd culoarea lichidului a atins aceeaşi nuanţă cu etalonul şi se citeşte la nivelul inferior al meniscului cantitatea de hemoglobină la sută sau în grame.

Rezultate :

— 87%—110% (în procente) ;

— 14 g—18 g (în g Hb, la 100 ml sînge)

(limitele inferioare se referă la valoarea normală a hemoglobinei la femei).

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 931 *Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a. 1,5 ml

b) *Metoda Philipps-van Slyke* (modificată)

(pentru trierea hemoglobinometrică de serie).

Reactivi : soluţie — stoc sulfat de cupru densitate 1 100 ; eter sulfuric.

Prepararea soluţiei stoc. În 40 ml apă distilată se solubilizează la cald 160 g sulfat de cupru chimic pur într-un pahar Berzelius. Se răceşte la curent de apă şi se trece într-un balon cotat de 1 000 ml aducîndu-se pînă la semn cu apă distilată. Se controlează densitatea soluţiei cu densimetrul care trebuie să fie 1 100. Din această soluţie se prepară zilnic, în pahare Berzelius, două soluţii sulfat de cupru cu densitatea de 1 052 respectiv de 1 050 în primul caz prin adăugarea la 51 ml soluţie stoc 49 ml apă distilată, iar în al doilea caz la 49 ml soluţie stoc 51 ml apă distilată.

Prima soluţie se utilizează pentru determinarea hemoglobinei la bărbaţi (cifră limită 12,3 g Hb%=76,8% Sahli), iar cea de a doua la femei (cifră limită 11,5 g Hb%=71,8% Sahli).

Tehnică. Se degresează bine pulpa degetului cu eter sulfuric (alcoolul sau grăsimile produc erori de determinare). Se puncţionează cu ac Francke sau ac de seringă, se şterge prima picătură şi se recoltează o a doua cu o pipetă Pasteur cu vîrf efilat. De la o înălţime de 1,5 cm se lasă să cadă picătura de sînge în soluţia de sulfat de cupru corespun-

* La nou-născut şi copil, amestecul se lasă în repaus pînă la 45 de minute.

Scanned with OKEN Scanner

zătoare sexului pacientului. Picătura de sînge se cufundă 2—3 cm în lichid, după care se ridică la suprafață, dacă densitatea sa este mai mică ca soluția, cade la fund dacă are densitate mai mare ca soluția sau rămîne în masa lichidului dacă are aceeași densitate.

Cu 100 ml soluție se pot face 50 de determinări.

Rezultate. Metoda are de scop să facă un triaj al persoanelor cu cantitatea de hemoglobină scăzută sub limită și se utilizează, fiind expeditivă, în stațiile de recoltare și conservare de sînge.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 6 032 *Cuprum sulfuricum anhydricum* p. a. 16 g

c) *Dozarea fotometrică a hemoglobinei* (Heilmeyer)

Reactivi : soluție 0,4% amoniac ; hiposulfit de sodiu pulbere ; alcool rectificat ; eter sulfuric.

Tehnică. Într-o eprubetă de hemoliză se amestecă 20 mm^3 sînge recoltat cu pipeta de hemoglobină prin puncția pulpei degetului cu 2 ml apă amoniacală din care s-au sustras 20 mm^3 cu pipeta de hemoglobină. Se adaugă cîteva cristale de hiposulfit de sodiu. Se agită. Culoarea roșie clară virează în roșu violaceu. Se umplu cuvele de 5 mm grosime ale fotometrului Pulfrich și se măsoară extincția cu filtru S.57 (cuva de compensație se umple cu apă distilată).

g Hb% = 33 (factor de etalonare) × 100 (diluția) × extincția (citită fotometric).

Rezultate. 16 g% la bărbat ; 14,5 g% la femeie.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 2 883 *Ammonia liquida* p. a. . . . . 8 ml
Cod 12 415 *Natrium thiosulfuricum* p. a. . . . . 2 g

d) *Determinarea hemoglobinei alcalinorezistente*

Reactivi : oxalat de sodiu (citrat de sodiu) ; hidroxid de sodiu N/12 ; toluen ; reactiv precipitant.

Prepararea reactivului precipitant :

Sulfat de amoniu, soluție saturată . .	100 ml
Acid clorhidric 10/N	0,5 ml
Apă distilată	100 ml

Tehnică. Se recoltează 2 ml sînge pe anticoagulant după tehnica obișnuită și se îndepărtează complet proteinele plasmatice prin spălarea eritrocitelor.

Se tratează 1 ml eritrocite spălate cu 1,5 ml apă distilată și 0,4 ml toluen, într-o eprubetă de centrifugă închisă cu dop de cauciuc, prin agitare puternică și continuă timp de 5—6 minute și centrifugare 20 de minute, la 3 000—5 000 ture. Soluția de hemoglobină astfel obținută se decantează și se centrifughează din nou în aceleași condiții.

Scanned with OKEN Scanner

La 0,1 ml soluție hemoglobină se adaugă 1,6 ml hidroxid de sodiu N/12. Se spală de 5—6 ori pipeta în soluție alcalină și se agită ușor. După 1 minut se adaugă 3,4 ml reactiv precipitant, se amestecă ușor, apoi se filtrează sau se centrifughează. Lichidul supernatant (A) se fotocolorimetrează.

Se prepară soluție B adăugînd 0,02 ml soluție hemoglobină la 4 ml apă distilată și se fotocolorimetrează. Pentru a măsura 0,02 ml se utilizează o pipetă de hemoglobină.

Procentul de hemoglobină alcalinorezistentă se calculează după formula următoare :

$$\text{Hemoglobină A.R.}\% = \frac{\text{Extincție soluție A} \times 1/4}{\text{Extincție soluție B}} \times 100$$

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	170 ml
Cod 3 105 +)	*Ammonium sulfuricum cryst.* purificat	20 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	2 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	2 g
Cod 16 138	*Toluolum* p. a.	40 ml

5. DETERMINAREA VOLUMULUI ERITROCITAR (HEMATOCRITUL)

Reactivi : heparină fiole a 5 000 u. i.

Tehnică. Se recoltează 2 ml sînge prin puncție venoasă, fără stază și se transvazează în flaconul conținînd pe pereți heparina uscată. Se omogenizează prin răsturnare de cîteva ori. Cu o pipetă Pasteur cu vîrf efilat se aspiră sînge și se umple tubul de hematocrit pînă la orificiul superior. Aceste tuburi trebuie să fie perfect curățite și bine uscate la pupinel. În vederea unei cît mai corecte umpleri manevra se începe din fundul tubului și, pe măsură ce sîngele se scurge, se retrage vîrful pipetei. În cazul cînd apar bule de aer, se scutură tubul printr-o mișcare bruscă. În lipsa hematocritului Hedin, centrifugarea se poate face la orice tip de centrifugă, timp de 10 minute, cu condiția ca să aibă 6 000 turații/sec. și indicator de viteză. La un număr mai mic de turații (2 000—4 000/sec.) centrifugarea se face timp de 20—30 de minute, rezultatele fiind aproximative. În cazul cînd indicatorul de viteză lipsește, se centrifughează pînă cînd valoarea hematocritului rămîne constantă. Citirea se face direct pe tubul de hematocrit în procente. În cazul cînd se utilizează tuburi de hematocrit improvizate (confecționate din pipete Westergreen), calculul se efectuează măsurînd, cu o riglă, lungimea totală a coloanei de lichid care apoi se raportează la lungimea coloanei de eritrocite, după următoarea formulă :

$$\text{Hematocritul exprimat la } \% = \frac{\text{n (coloana eritrocite în mm)} \times 100}{\text{N (coloana totală în mm)}}$$

Rezultate. 44—50% la bărbat ; 40—45% la femeie.

Valoarea hematocritului la indivizii normali reprezintă aproximativ primele două cifre ale numărului de eritrocite pe mm^3.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Heparină 5 000 u. . . . . 4 fiole

6. VITEZA DE SEDIMENTARE A ERITROCITELOR (Metoda Westergreen)

A se vedea la capit. Examene biochimice — probe de disproteinemie.

7. EXAMENUL MORFOLOGIC AL ERITROCITELOR

Reactivi : colorant panoptic May-Grünwald-Giemsa ; alcool rectificat ; eter sulfuric.

Tehnică. Din sîngele obţinut prin înţeparea pulpei degetului se fac frotiuri subţiri de sînge, care se fixează, se colorează prin metoda May-Grünwald-Giemsa şi se examinează la microscop cu obiectivul de imersie. Colorarea se efectuează după tehnica arătată la pag. 243.

Rezultate. Eritrocitele apar de culoare roz (acidofilie) cu centrul mai clar, cu diametrul de 7,2—7,5 μ, o formă de disc biconcav, talie aproximativ egală (curba Price-Jones normală) şi colorație asemănătoare (izocitoză, izocromie).

Aspecte patologice de talie : microcitoză, macrocitoză, anizocitoză ; de formă : poikilocitoză ; de colorabilitate : anizocromie, hipocromie, hipercromie, policromatofilie ; resturi nucleare : corpi Jolly, inelul Cabot; granulaţii : azurofilie, bazofilie ; eritrocite nucleate ; distrofii eritrocitare ; sferocitoză, ovalocitoză, megalocitoză. Corpusculi Heinz (puţin colorat cu albastru de Nil).

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

	Soluţie May-Grünwald	200 ml
	sau preparată din :	
Cod 2 419 +)	*Alcohol methylicus* pt. a.	200 ml
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	100 ml
Cod 19 452	*Eosin methylen blau*	2 g
Cod 20 740	*Soluţie Giemsa*	15 ml
	sau preparată din :	
Cod 2 419 +)	*Alcohol methylicus* pt. a.	250 ml
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	250 ml
Cod 18 852	*Azur II*	0,8 g
Cod 18 854	*Azur II Eosin*	3 g
	sau	
	May-Grünwald pulvis	0,1 g
	Giemsa pulvis	0,2 g
Cod 2 419 +)	*Alcohol methylicus* pt. a.	100 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml

8. PUNEREA ÎN EVIDENŢĂ A RETICULOCITELOR

Reactivi : soluţie 0,3% *brillantcresylblau* în alcool absolut ; parafină solidă ; alcool rectificat ; eter sulfuric ; soluţie Giemsa.

Tehnică. Se efectuează un frotiu subţire de soluţie alcoolică de *brillantcresylblau.* Se lasă să se usuce. Se aplică apoi, deasupra, o pică-

Scanned with OKEN Scanner

tură de sînge, recoltată extemporaneu. Se acoperă cu o lamelă parafinată (preparat umed). Se examinează la microscop cu obiectivul de imersie.

Rezultate. Resturile de acid ribonucleic, sub formă reticulofilamentoasă, apar colorate în albastru, mai mult sau mai puțin dezvoltate, în funcție de gradul de maturație al reticulocitului (aspecte : ghem, reticular, filamentos, granulații). O numărare de reticulocite comportă uscarea lamei și colorarea cu colorant Giemsa după care numărul de reticulocite găsit pe mai multe cîmpuri la examenul microscopic se raportează la numărul de eritrocite din aceleași cîmpuri, rezultatul dîndu-se procentual. Frecvența 4—7‰ reticulocite (maximum 18‰).

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutum* pt. a. .	10 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 13 659	*Paraffinum albiss. 56° purum*	10 g
Cod 18 966	*Brillant cresyl blau*	0,03 g
Cod 20 740	*Soluție Giemsa*	15 ml

LEUCOCITUL

1. NUMĂRĂTOAREA LEUCOCITELOR

Reactivi : lichide de diluție (Hayem, Türk) ; alcool rectificat ; eter sulfuric.

Prepararea lichidelor de diluție :

Soluția Hayem (pentru leucocite)

Acid acetic	1 ml
Albastru de metilen	0,05 g
Apă distilată	200 ml

Soluția Türk

Acid acetic	1,5 ml
Soluție 1% violet gențiana	1 ml
Apă distilată	98 ml

Soluțiile se conservă în flacoane tip penicilină.

Tehnică. Sîngele necesar examenului se recoltează prin metoda înțepării. După înlăturarea primei picături cu hîrtie de filtru, se recoltează cu pipeta Potain din cea de a doua picătură o cantitate de sînge pînă la diviziunea 0,5 sau 1. Citirea diviziunii se face ținînd pipeta în poziție strict verticală. Se aspiră lichid de diluție pînă la diviziunea 11. Se omogenizează prin agitare orizontală, după detașarea tubului de cauciuc, procedîndu-se la fel ca și în cazul numărătorii eritrocitelor. Umplerea camerei de numărat respectă aceeași tehnică. Numărarea se efectuează pe 4 pătrate mari ale rețelei de numărat, corespunzînd fiecare la 1 mm^2, după care se face media corespunzătoare unui pătrat. Rezultatul se multiplică cu diluția și cu înălțimea camerei pentru a se determina numărul leucocitelor pe mm^3, după formula următoare :

Scanned with OKEN Scanner

$$X \text{ (numărul leucocitelor) pe mm}^3 = \frac{N \text{ (numărul leucocitelor găsit)}}{4} \times D \text{ (20 sau 10)} \times I \text{ (10)}$$

sau

$$X = \text{media} \times (200 \text{ sau } 100)$$

Rezultate :

Adult	5 000— 8 000 leucocite/mm³
Sugar	8 000—10 000 leucocite/mm³
Nou-născut	12 000—15 000 leucocite/mm³

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Soluție Hayem

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	0,50 ml
Cod 20 120	*Methylen blau*	0,025 g

Soluție Türk

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	1,50 ml
Cod 19 714	*Genţiana violet*	0,01 g

2. NUMĂRĂTOAREA DIFERENŢIALĂ A EOZINOFILELOR

Reactivi : alcool rectificat ; lichid special de diluţie ; eter sulfuric.

Prepararea lichidelor de diluţie :

Soluţia 1

Soluţie apoasă 1% eozină	5 ml
Acetonă	5 ml
Apă distilată	90 ml

se filtrează şi se păstrează la +4°.

Soluţia a 2-a

A. Soluţie mamă albastru de metilen 1% în propilenglicol
B. Soluţie mamă floxină 1% în propilenglicol
Se pregăteşte extemporaneu cîte o soluţie în părţi egale cu apă distilată din A şi din B, după care aceste soluţii se amestecă una cu alta.

Soluţia a 3-a (Giovani D'Angelo)

A. Soluţie eozină 1% în apă distilată
B. Soluţie bromcresol 0,07% în apă distilată.
La utilizare se amestecă în părţi egale şi se verifică pH-ul care trebuie să fie 4,98.

Tehnică. Sîngele se recoltează în pipete de globule albe după tehnica de numărare a leucocitelor. Se aspiră lichid de diluţie pînă la gradaţia 11, se lasă în repaus timp de 15 minute. Înainte de umplerea camerei de numărat se agită viguros. Numărarea şi calculul se fac ca şi la leucocite. Se recomandă ca examenul să se efectueze imediat după recoltare.

Rezultate. Circa 200 de elemente pe 1 mm³.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Soluţia 1

Cod 38	*Acetonum* pt. a.	5 ml
Cod 19 562	*Eosin W. G.*	0,1 g

Scanned with OKEN Scanner

Soluţia a 2-a

Cod 14 297	*Propan 1—2 diolum (Propylenglycolum) purum*	50 ml
Cod 20 120	*Methylen blau*	0,25 g
Cod 20 510	*Phloxynum* p. a.	0,25 g

Soluţia a 3-a (Giovani D'Angelo)

Cod 19 003	*Brom cresol purum*	0,04 g
Cod 19 562	*Eosin W.G.*	0,20 g

3. EXAMENUL MORFOLOGIC LEUCOCITAR

Reactivi : colorant May—Grünwald—Giemsa ; alcool rectificat ; eter sulfuric.

Pregătirea lamelor degresate. Degresarea lamelor noi se face prin spălarea cu apă caldă şi săpun, clătire cu apă rece, apoi ştergere pînă la completa uscare, cu o cîrpă moale. Se păstrează ambalate cîte 6—10 lame, în foiţă fără scame. Lamele folosite se curăţă cu benzol, se spală cu apă şi săpun şi după aceea se ţin în amestec sulfocromic timp de 48 de ore, după care se spală la apă curentă timp de 24 de ore, se usucă prin ştergere şi se conservă în soluţie alcool-eter în părţi egale.

a) *Executarea frotiului de sînge*

Frotiul de sînge se execută recoltînd o picătură de sînge, obţinută prin înţepare, care se depune pe o lamă. Cu marginea unei alte lame sau lamele, avînd un colţ rupt, în unghi de 30—45°, se atinge picătura de sînge care se întinde prin capilaritate în lungul acestei margini. Lama (lamela) este apoi împinsă fără grabă printr-o mişcare de translaţie către marginea opusă a lamei, fără a apăsa prea tare. Un frotiu bun este subţire, nu are soluţii de continuitate şi nici ondulaţii. După întindere, lama se usucă la aer prin agitare şi se marchează. Se va evita folosirea lamelor reci (sub 15°). Dacă frotiurile nu pot fi colorate imediat, se conservă învelite cîte 2 (spate la spate) în hîrtie moale (muştele consumă frotiul necolorat).

b) *Prepararea soluţiilor colorante*

Fixarea şi colorarea frotiului se face prin metoda panoptică Pappenheim utilizînd soluţiile colorante May—Grünwald—Giemsa şi apă distilată neutră.

Dacă laboratorul nu dispune de soluţii gata pregătite, îşi poate prepara reactivii necesari astfel :

Soluţia May-Grünwald

Eosinat de albastru de metilen	1 g
Glicerină neutrală anhidră	50 ml
Alcool metilic	100 ml

După preparare se filtrează

Soluția Giemsa

Azur II-eosină	3 g
Azur II	0,8 g
Glicerină neutrală anhidră	250 ml
Alcool metilic	250 ml

Amestecul se incubează 3 zile, la termostat, la +60°, în sticlă ermetic închisă, apoi se filtrează.

Apa bidistilată neutră. Se obține prin distilarea apei în sisteme de sticlă neutră (Jena, Duran). Se verifică pH prin metodele obișnuite. Folosirea ei se face numai în ziua preparării, pentru a nu conține acid carbonic. În cazul cînd nu este posibil să se utilizeze apă distilată proaspătă se prepară apă distilată cu tampon fosfatic pH 7,2 după următoarea formulă :

Fosfat monobazic de potasiu	0,49 g
Fosfat bibazic de sodiu	1,14 g
Apă distilată	100 ml

Soluția se păstrează într-o sticlă cu dop șlefuit la frigider (+4°). La utilizare, se diluează cantitatea necesară de 10 ori (1 parte tampon — 9 părți apă distilată).

c) *Fixarea și colorarea frotiului*

Se așază lamele pe stative, cu frotiul în sus. Fixarea se efectuează cu soluție May-Grünwald, picurînd numărul necesar de picături pînă ce tot frotiul a fost acoperit de soluție fără să se scurgă peste marginile lamei. Se reține numărul de picături. Frotiul se lasă în repaus timp de 2—3 minute. Pentru colorare, se adaugă în primul timp un număr egal de picături de apă distilată neutră peste soluția precedentă cu cel reținut și se lasă 1—2 minute, după care se răstoarnă colorantul. În al doilea timp, fără spălare, frotiul se acoperă cu soluție Giemsa diluată (10 ml apă+15—20 picături soluție Giemsa) și se lasă timp de minimum 20—30 de minute într-o cutie Petri acoperită, pentru a se împiedica evaporarea. Se varsă apoi colorantul, se spală preparatul cu apă distilată în jet puternic și se usucă în poziție înclinată în stativul de lemn pentru uscarea lamelor.

Cînd dispunem de substanțe în stare de pulbere se poate folosi următorul amestec :

May-Grünwald pulv.	1 g
Giemsa pulv.	2 g
Alcool metilic p. a.	1 000 ml

Amestecul se lasă la 37°, timp de 24 de ore, în sticlă bine închisă cu dop rodat.

Tehnica de colorare respectă următorii timpi :

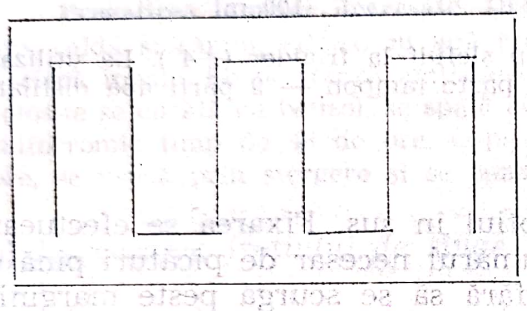
Se acoperă lama cu amestec și se lasă timp de 2—3 minute. Peste amestec se adaugă apoi apă tamponată (neutră) în dublă cantitate ca amestecul. Se omogenizează și se lasă 10—15 minute. Se spală cu jet de apă de robinet. Se lasă să se usuce în poziție verticală, după ce în prealabil s-a șters dosul lamei.

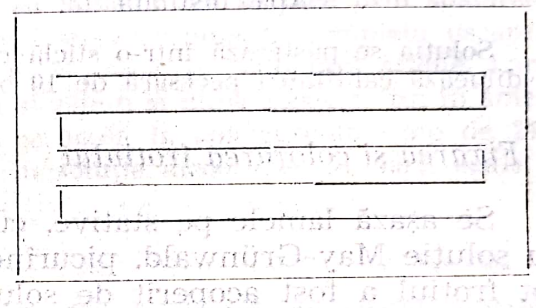
Scanned with OKEN Scanner

Rezultate. Hematiile apar roz-roşietice, nucleii violet, citoplasmele în diferite tonalităţi de albastru şi roz transparent, granulaţiile neutrofile în roz-brun, cele bazofile în albastru intens, cele eozinofile în roşu-purpuriu. Apa alcalină dă tonalităţi închise, cea acidă deschise.

d) *Efectuarea formulei leucocitare*

Tehnică. Se aşază lama pe platina microscopului cu frotiul colorat în sus şi se lasă să cadă o picătură de ulei de cedru pe un colţ al preparatului. Se reglează obiectivul de imersie al microscopului pe picătura de ulei de cedru pînă se obţine o imagine clară. După aceea se trece la numărarea elementelor sanguine leucocitare, deplasînd platina microscopului în zigzag aşa fel încît să poată fi parcurse atît marginile frotiului, cît şi partea centrală, conform schemelor de mai jos.





Se numără cel puţin 200 de elemente după metodele obişnuite şi se face procentajul, pentru fiecare categorie de leucocite, cu următoarea formulă :

$$X = \frac{\text{Nr. leucocitelor dintr-o categorie} \times 100}{\text{Nr. total leucocite numărate}}$$

Rezultate :

Granulocite neutrofile	60—70 %
Granulocite eozinofile	1—2 %
Granulocite bazofile	0,5—1 %
Limfocite	20—30 %
Monocite	6—10 %

Pentru obţinerea numărului absolut se aplică formula următoare :

$$X = \frac{\text{nr. leucocite/mm}^3 \times \text{procentul categoriei căutate}}{100}$$

Rezultate (la o leucogramă de 7 000 elemente/mm³)

Granulocite neutrofile	4 000—6 000	elemente/mm³
„ eozinofile	100— 240	elemente/mm³
„ bazofile	1— 30	elemente/mm³
Limfocite	1 000—2 000	elemente/mm³
Monocite	400— 800	elemente/mm³

Scanned with OKEN Scanner

e) *Formula nucleară* (Arneth)

Tehnică. Se numără pe frotiu 200 de elemente — granulocite neutrofile — pe 5 grupe, în funcţie de numărul lobilor nucleari şi se face procentul pentru fiecare grupă de elemente în parte.

Rezultate :

Nucleu mic reniform	5 %
Nucleu bilobat	35 %
Nucleu trilobat	41 %
Nucleu cu 4 lobi	2 %
Nucleu cu 5 lobi	0 %

Formula Arneth deviată la dreapta arată prezenţa în procent ridicat în circulaţia sanguină a elementelor bătrîne (nuclei cu mulţi lobi) ; deviată la stînga, procent ridicat în circulaţia sanguină a elementelor tinere (nuclei cu puţini lobi).

Reactivi necesari (pentru 100 de examene) *

	Soluţie May-Grünwald	200 ml
	sau preparată din :	
Cod 2 419 +)	*Alcohol methylicus* pt. a.	200 ml
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	100 ml
Cod 19 452	*Eosin methylen blau*	2 g
Cod 20 740	*Soluţie Giemsa*	15 ml
	sau preparată din :	
Cod 2 419 +)	*Alcohol methylicus* pt. a.	250 ml
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	250 ml
Cod 18 852	*Azur II*	0,8 g
Cod 18 854	*Azur II Eosin*	3 g
	sau	
	May-Grünwald pulvis	0,1 g
	Giemsa pulvis	0,2 g
Cod 2 419 +)	*Alcohol methylicus* pt. a.	100 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml

4. EXAMENE HISTOCHIMICE

PUNEREA ÎN EVIDENŢĂ A FERMENŢILOR

a) *Reacţia oxidazelor* (Schultze)

Reactivi : reactiv formol 40% şi alcool absolut în părţi egale ; soluţie α-naftol 1% în soluţie clorurosodică izotonică, alcalinizată la întrebuinţare cu Na OH N/10 1 ml (1) ; soluţie paradimetilparafenilendiamin baza (Merck) 1% în soluţie clorurosodică izotonică (2).

---

* În cazul preparării în laborator a soluţiilor colorante, pentru calcularea necesarului se vor folosi formulele date.

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică. Frotiul de sînge se fixează în soluţie formol alcool absolut, timp de 3 minute. Se colorează cu un amestec extemporaneu din soluţia 1 şi 2 filtrat în prealabil, în proporţie de 1 la 4, timp de 3 minute. Se spală cu apă, se usucă şi se supracolorează cu soluţie Giemsa. Se examinează la microscop cu sau fără imersie.

Rezultate. Reacţia oxidazelor este pozitivă cînd apar granulaţii de culoare albastră (albastru de indofenol) în interiorul celulelor sanguine de origine mieloică ; negativă în seria limfoidă şi slab pozitivă în seria monocitară.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	100 ml
Cod 7 807	*Formaldehydum 40% purum*	100 ml
Cod 11 560	*α-naphtolum pulvis* p. a.	0,50 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	2 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	0,002 g
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
	Paradimethyl, para phenylen diamin .	1,50 g

b) *Reacţia peroxidazelor* (Sato)

Reactivi : soluţie apoasă de sulfat de cupru 0,5% ; soluţie benzidină 0,2% ; apă oxigenată 3% ; soluţie safranină apoasă 1%.

Tehnică. Pe frotiul uscat, *dar nefixat,* se pune o soluţie de sulfat de cupru 0,5% şi se lasă 1 minut. Se varsă şi, fără spălare, se toarnă pe lamă o soluţie filtrată de benzidină, la care s-a adăugat apă oxigenată (2 pic. la 100 ml soluţie) şi se lasă, pentru colorare, 2 minute. Se spală cu apă şi se colorează cu soluţie de safranină timp de 2 minute. Se examinează la microscop cu sau fără imersie.

Rezultate. Granulaţiile peroxidazice ale seriei mieloice se colorează în albastru închis, deci dau reacţia peroxidazelor pozitivă.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 3 894	*Benzidinum purum*	0,4 g
Cod 6 032	*Cuprum sulfuricum anhydricum* p. a. .	1 g
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 706	*Safranină T.*	2 g
	Apă oxigenată 3%	IV picături

PUNEREA ÎN EVIDENŢĂ A GRĂSIMILOR

a) *Metoda cu Sudan III*

Reactivi : soluţie alcoolică de Sudan III.

Prepararea soluţiei

Soluţia alcoolică de Sudan III se efectuează la cald (alcool cald) după următoarea formulă :

Sudan III	0,1 g
Alcool 70°	20 ml

Tehnică. Se face un frotiu subțire cu soluție Sudan pe o lamă de sticlă. Peste frotiu se lasă să cadă o picătură de sînge. Preparatul se acoperă cu o lamelă și se lasă în repaus, 4—5 minute. Se examinează la microscop cu obiectiv cu sau fără imersie.

Rezultate. Granulele de grăsime din sîngele cercetat se colorează în roșu portocaliu.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 756	*Sudan III*	0,025 g
	Alcohol aethylicus 70°	5 ml

b) *Metoda cu acid osmic*

Reactivi : acid osmic soluție 1% ; alcool absolut ; soluție permanganat de potasiu 1%.

Prepararea soluției de acid osmic. Într-o sticlă cu dop rodat foarte curată și bine uscată (de preferință nouă și spălată) se pune conținutul unei fiole de acid osmic 1 ml, care în prealabil, înainte de a fi tăiată a fost bine spălată cu apă, ținută în amestec sulfocromic, clătită cu apă, alcool și eter. Fiola se pilește apoi circular, se spală încă o dată cu eter și, fără a rupe vîrful, se pune în jumătate din apa bidistilată de diluție. Fiola se sparge prin lovire de pereții sticlei. Se completează restul necesar de apă și se păstrează în sticlă brună.

Tehnică. Frotiul se cufundă timp de 3 minute în soluție de acid osmic, se usucă, se cufundă în alcool absolut, 10 minute, se trece prin soluție de permanganat de potasiu 1% în apă distilată și se spală apoi abundent cu apă.

Rezultate. Grăsimile din sînge se colorează în negru.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 1 245	*Acidum osmicum* soluție 2% p. a. . .	2 ml
Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. .	100 ml
Cod 9 769 +)	*Kalium permanganicum* p. a.	2 g

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A GLICOGENULUI

Metoda acidului periodic

Reactivi : soluție acid periodic ; soluție iodură de potasiu ; reactiv Schiff ; apă sulfuroasă.

Prepararea soluțiilor

Soluție acid periodic

Acid periodic	0,4 g
Apă distilată	45 ml

Soluție iodură de potasiu

Iodură de potasiu	2 g
Apă distilată	40 ml
Alcool 96°	60 ml
Acid clorhidric 2 N	1 ml

Apa sulfuroasă

Se prepară din metabisulfit de sodiu soluție 10% în apă distilată astfel :

Metabisulfit de sodiu soluție 10% . .	10 ml
Apă distilată	200 ml
Acid clorhidric N/1	10 ml

Ordinea de mai sus va fi păstrată la preparare.

Reactiv Schiff

Se prepară astfel : se dizolvă la cald, în apă distilată fierbinte, fucsină bazică cristalizată astfel încît să se obțină o soluție de 0,5%.

Această soluție se introduce în formula :

Fucsină bazică soluție 0,5% . . .	100 ml
Metabisulfit de potasiu anhidru . .	1 g
Acid clorhidric N/1	5 ml

Soluția obținută se lasă la întuneric 24 de ore, în vederea decolorării complete. Se tratează apoi cu 0,5 g cărbune animal activat și se filtrează. Filtratul — incolor — se poate conserva timp de 3—4 săptămîni la întuneric, în sticlă brună cu dop de sticlă. Dacă soluția are tendința să se recoloreze, nu va fi folosită fiind improprie.

Tehnică. Frotiul se fixează cu alcool metilic timp de 4—5 minute. Se trece apoi în soluție de acid periodic, 5 minute. Se spală cu apă, se trece 5 minute în soluție de iodură de K, apoi se colorează cu reactiv Schiff, 15—45 minute. Se clătește cu apă sulfuroasă. Se spală cu apă și se usucă. Reactivii se mențin în cutii de sticlă Laveran, lamele trecîndu-se dintr-o cutie în alta.

Rezultat. Glicogenul apare colorat în roșu purpuriu, cu structură granulară.

Verificarea calității reacției se face prin tratamentul cu salivă centrifugată a frotiului timp de 15—30 de minute, înainte de fixare. Astfel glicogenul dispare de pe frotiu, iar prin colorarea lamei nu mai apare culoarea specifică purpurie.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	1 ml
Cod	1 298	*Acidum perjodicum* p. a.	0,40 g
Cod	2 333 +)	*Alcohol aethylicus* 90° *purificat* . . .	30 ml
Cod	9 700	*Kalium jodicum* p. a.	1 g
Cod	11 641	*Natrium aceticum* p. a.	0,02 g
Cod	11 784	*Natrium bisulfurosum meta* p. a. . . .	0,25 g
Cod	15 060	*Schiff reagent* p. a.	100 ml

PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A FOSFATAZEI ALCALINE

Metoda cu substrat-tampon

Reactivi : formol 40% ; substrat cu pH 9,4 ; soluție nitrat de calciu 2% ; soluție nitrat de cobalt 2% ; soluție sulfură de amoniu proaspătă.

Scanned with OKEN Scanner

Substrat cu pH 9,4 :

Glicerofosfat de sodiu 2%	20 ml
Nitrat de calciu 2%	10 ml
Tampon medinal (veronal sodic) 2%	20 ml
Apă distilată	50 ml
Sulfat de sodiu 0,1%	1 ml

Amestecul se face în ordinea indicată.

Prepararea tamponului medinal se face dintr-o soluție de veronal sodic cu următoarea formulă :

Medinal (veronal sodic)	10,30 g
Apă distilată	1 000 ml (sol. 1)

Această soluție se tamponează cu :

Soluție veronal sodic	9,74 ml (sol. 1)
Acid clorhidric N/10	0,26 ml

rezultînd un tampon 2% pH 9,4.

Soluția de sulfură de amoniu

Soluție comercială sulfură de amoniu	10 gtt.
Apă distilată	50 ml

Soluția comercială sulfură de amoniu se păstrează în sticlă brună, cu dop de sticlă parafinat.

Tehnică. Frotiul imediat după recoltare se fixează în vapori de formol, 4—5 minute (vaporii de formol se realizează umezindu-se cu formol o hîrtie de filtru în cutie Petri) ; apoi se spală și se incubează la baie de apă la +37° în vasul cu „substrat" timp de 6—48 de ore. Se ține apoi, timp de 5 minute, în soluție 2% nitrat de calciu după care se trece în soluție 2% intrat de cobalt timp de 2 minute. Se spală 1 minut în jet de apă distilată după care se ține în sulfură de amoniu, timp de 1—2 minute. Se spală abundent la apă curentă. Se usucă și se examinează la microscop cu obiectiv 7 și imersie.

Reactivii se menținîn cutii de sticlă Laveran. În afară de „substrat" celelalte soluții se prepară extemporaneu.

Rezultate : Fosfatazele alcaline apar intracelular colorate în brun-negru. Citirea se face comparativ cu un frotiu colorat după aceeași tehnică și provenit de la un individ normal.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 3 099	*Ammonium sulfuratum* soluție 40% p. a.	100 ml
Cod 5 105 +)	*Calcium nitricum* pt. a.	2,50 g
Cod 5 784 +)	*Cobaltum nitricum oxydulatum* p. a.	2 g
Cod 7 807	*Formaldehydum* 40% *purum*	50 ml
Cod 11 920	5-5 *Natrium diaethylbarbituricum* p. a.	0,3 g
Cod 11 975	*Natrium glycerophosphoricum* p. a.	0,20 g
Cod 12 355	*Natrium sulfuricum anhydricum* p. a.	0,001 g
Cod 18 034	*Acidum hydrochloricum* N/10	0,6 ml

Scanned with OKEN Scanner

TROMBOCITUL

1. NUMĂRAREA TROMBOCITELOR

a) *Metoda indirectă* (Fonio)

Reactivi : soluție sulfat de magneziu 14% ; soluție May-Grünwald-Giemsa ; eter sulfuric.

Tehnică. Pe pulpa degresată a degetului se aplică o picătură de soluție sulfat de magneziu 14% cu vîrful acului, înmuiat în soluție de sulfat de magneziu, se înțeapă pulpa degetului. Picătura de sînge rezultată se omogenizează apoi cu picătura de sulfat de magneziu, cu o baghetă de sticlă. Din acest amestec se întind două frotiuri foarte subțiri, care se usucă și se colorează, timp de 40 de minute, cu soluție May-Grünwald-Giemsa.

Frotiul se examinează la microscop pregătit pentru aceasta (ocular Ehrlich cu diafragmă reglabilă sau prin introducerea în ocular a unui disc de hîrtie neagră avînd în centru decupat un pătrățel cu latura de 0,3 cm). Examinarea se face cu obiectivul cu imersie. Eritrocitele și trombocitele se numără pe mai multe cîmpuri, raportîndu-se apoi numărul de trombocite găsite la 1 000 eritrocite față de numărul total de eritrocite, după formula următoare :

$$\text{Trombocite/mm}^3 = \frac{\text{Nr. eritrocite mm}^3 \times \text{nr. trombocite găsite}}{\text{Nr. eritrocite numărate pe frotiu (1 000)}}$$

Valori normale : 250 000 — 300 000/mm³

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 1 770	*Aether aethylicus* p. a.	40 ml
Cod 10 742 +)	*Magnesium sulfuricum* pt. a.	1 g
Cod 20 740	*Soluție Giemsa*	15 ml
	Soluție May-Grünwald	200 ml

b) *Metoda directă* (Ress-Ecker)

Reactivi : lichid de diluție ; alcool rectificat.

Prepararea lichidului de diluție :

Citrat trisodic	3,8 g
Formaldehidă 40%	0,2 ml
Brillantcresylblau	0,1 g
Apă distilată	100 ml

Tehnică. Se punctionează pulpa degetului după tehnica obișnuită. Se aspiră, în pipeta Potain de globule roșii, lichid de diluție pînă la diviziunea 0,5 ; apoi se aspiră sînge pînă la diviziunea 1. Se completează cu lichid de diluție pînă la diviziunea 101. Se agită bine, se înlătură primele 4—5 picături după care se umple camera de numărat. Se așteaptă sedimentarea 20 de minute, păstrîndu-se camera de numărat în camera umedă și apoi se numără trombocitele pe 400 pătrățele mici. Rezultatul se înmulțește cu 200.

Rezultate : 250 000 de trombocite pe mm³.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 7 807	*Formaldehydum 40% purum*	0,2 ml
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	3,8 g
Cod 18 966	*Brillant cresyl blau*	0,1 g

c) *Metoda directă* (Cazal)

(permite numărătoarea concomitentă a reticulocitelor)

Reactivi : lichid de diluţie ; eter sulfuric.

Prepararea lichidului de diluţie :

Soluţia A

Sublimat corosiv	2 mg
Citrat trisodic	1 g
Brillantcresylblau	20 cg
Apă distilată	200 ml

Soluţia B

Uree	20 g
Apă distilată	100 ml

Soluţiile A şi B se amestecă înainte de întrebuinţare în părţi egale.

Tehnică. Se aspiră, în pipeta Potain pentru leucocite, lichid de diluţie pînă la diviziunea 0,5 ; în continuare se aspiră sînge, recoltat prin puncţionarea pulpei degetului cu acul, pînă la diviziunea 1. Se aspiră din nou lichid de diluţie pînă la diviziunea 11. Se agită bine pipeta şi se umple camera de numărat cu o a treia picătură, primele îndepărtîndu-se. Se aşteaptă 20 de minute păstrîndu-se camera de numărat în cameră umedă pentru sedimentarea elementelor, după care se efectuează numărarea la microscop, la o lumină redusă (pentru trombocite) şi la o lumină intensă pentru reticulocite. Numărul obţinut pe 400 de pătrăţele se înmulţeşte cu 200.

Rezultate : cifra medie, 250 000 de trombocite pe mm^3 şi 40 000—80 000 de reticulocite (la 4 000 000 de eritrocite).

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 8 716 +)	*Hydrargyrum bichloratum* pt. a. . . .	0,005 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	0,25 g
Cod 16 441	*Urea puriss.*	5 g
Cod 18 966	*Brillant cresyl blau*	0,05 g

2. EXAMENUL MORFOLOGIC ŞI AGLUTINABILITATEA TROMBOCITELOR

Reactivi : soluţie May—Grünwald—Giemsa ; eter sulfuric.

Tehnică. Se efectuează frotiuri obişnuite după tehnica descrisă. După colorarea prin metoda May—Grünwald—Giemsa frotiul se examinează la microscop, cu obiectiv cu imersie.

Rezultate. Trombocitele apar în sîngele periferic ca elemente adulte de 2—4 μ, de formă ovalară sau uşor naviculară, cu protoplasmă slab

bazofilă (albastru deschis) (hialomer), în care se află incluse formaţiuni azurofile (roşii purpurii) (cromomere) mai ales în zona centrală. Forme patologice se întîlnesc rar în sîngele periferic (macrotrombocite, anizocitoză trombocitară etc.).

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 1 770	*Aether aethylicus* p. a.	40 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Soluţie Giemsa*	15 ml
	Soluţie May-Grünwald	200 ml

C. ORGANE HEMATOPOIETICE

MĂDUVA OSOASĂ

1. PUNCŢIA OSOASĂ

a) *Puncţia medulară*

Reactivi: alcool rectificat ; tinctură de iod ; soluţie novocaină 1% ; soluţie clorurosodică izotonică sterilă ; colorant May—Grünwald—Giemsa.

Tehnică. Locul de elecţie a puncţiei osoase este, la adult, sternul, creasta iliacă, apofizele vertebrelor lombare, iar la copil sternul, platoul tibial, creasta iliacă. Pentru puncţie se foloseşte un ac gros de tip special, lung de 5 cm şi cu lumenul de 1,2 mm, avînd un mandren etanş, cu vîrful bine ascuţit. Acul prezintă o piedică pentru limitarea pătrunderii, la adîncimea dorită. După efectuarea puncţiei se extrage mandrenul şi se adaptează la ac o seringă Record pentru aspiraţia sîngelui medular. În cazul cînd nu se poate aspira sînge medular, se injectează soluţie clorurosodică izotonică sterilă încălzită la 37° după care se reaspiră. Materialele de puncţie se sterilizează înainte de întrebuinţare prin căldură uscată.

b) *Puncţia sternală* se efectuează la nivelul spaţiului celui de al doilea sau al treilea spaţiu intercostal pe linia mediană a sternului, după antiseptizarea şi anestezierea tegumentelor şi periostului. După extragerea acului se aplică pansament compresiv (tampon de vată cu tinctură de iod).

c) *Puncţia crestei iliace* se efectuează înapoia spinei iliace anterosuperioare, la o distanţă de 3 degete, la o adîncime de 1,5—2,5 cm.

d) *Puncţia platoului tibial* se face pe linia mediană la 1 cm sub tuberozitatea anterioară a tibiei.

Conţinutul seringii se varsă într-o sticlă de ceasornic foarte curată şi se utilizează pentru frotiuri subţiri, după omogenizarea rapidă cu o baghetă de sticlă.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de puncţii osoase)

Tinctura iodi	200 ml
Novocainã soluţie 1%	300 ml

2. FIXAREA ŞI COLORAREA FROTIULUI

Frotiurile de mãduvã osoasã se fixează şi se colorează prin metoda May—Grünwald—Giemsa, după care se examinează la microscop cu obiectiv de imersie.

Reactivi necesari (pentru 100 de puncţii osoase)

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	10 g
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Soluţie Giemsa*	15 ml
	Soluţie May-Grünwald	200 ml

3. NUMĂRĂTOAREA ELEMENTELOR NUCLEATE MEDULARE

Reactivi : lichid de diluţie pentru leucocite (Hayem, Türk).

Tehnică. Numărătoarea elementelor nucleate medulare se efectuează în camera de leucocite, utilizînd pentru diluţie pipeta de leucocite după tehnica obişnuită. În cazuri speciale, cînd numărul de elemente este foarte mare, diluţia se face cu pipeta de eritrocite folosind camera de numărat pentru eritrocite, dar utilizînd lichidul de diluţie pentru leucocite.

Rezultate. 70 000—80 000 de elemente nucleate pe mm^3 (cifre globale care includ toate elementele medulare ale seriei roşii, albe şi trombocitare).

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Soluţie Hayem		
Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	0,50 ml
Cod 20 120	*Methylen blau*	0,025 g
Soluţie Türk		
Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	1,50 ml
Cod 19 714	*Genţiana violet*	0,01 g

4. EXAMENUL MORFOLOGIC AL ELEMENTELOR MEDULARE

Reactivi : soluţie May—Grünwald—Giemsa.

Tehnică. Din materialul recoltat prin puncţia osoasă medulară se efectuează frotiuri subţiri. Aceste frotiuri se pot face şi din resturile punctatului din seringă cu care se stropesc, sub formă de picături, mai multe lame pe care se fac frotiurile. După colorare prin metoda May—Grünwald—Giemsa, examenul frotiurilor se face cu obiectivul mic pentru orientarea de ansamblu, apoi cu obiectivul cu imersie pentru studiul morfologic al elementelor seriilor : granulocitară, eritrocitară, monocitară şi megacariocitară şi stabilirea diagnosticului de laborator privind bolile de sînge.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Soluţie Giemsa*	15 ml
	Soluţie May-Grünwald	200 ml

5. MIELOGRAMA

Reactivi : soluţie May—Grünwald—Giemsa.

Tehnică. Pe un tabel conţinînd simbolul tuturor elementelor pe specii celulare, simbolul nucleilor liberi întîlniţi şi ai mitozelor, se trec tipurile de celule întîlnite prin examinarea a cel puţin 500 de elemente, după tehnica utilizată la formula leucocitară. În cazul frotiurilor mai sărace în elemente figurate medulare se examinează 3, 4, 5 preparate pînă se atinge cifra minimă de 500 de elemente.

Celulele nucleate medulare se împart în 3 grupe :

Grupa I : Celulele seriei albe.

Grupa a II-a : Celulele seriei roşii.

Grupa a III-a : Hemohistioblaşti, celule reticulare limfoide, celule plasmatice, celulele seriei megacariocitare, resturi nucleare.

Se începe însumarea tuturor elementelor figurate nucleate oprind numărătoarea cînd suma celulelor din grupa I întruneşte 100 de elemente. La 100 de elemente albe se notează cîte elemente din grupa a II-a şi a III-a s-au întîlnit. Se face procentajul în cadrul fiecărei serii. Limfocitele şi monocitele se includ în seria granulocitară, găsindu-se în măduva osoasă în număr redus. Dacă însă numărul lor este mare, se calculează ca o grupă aparte. Mielograma nu are valoare decît dacă conţine şi interpretarea imaginii punctatului medular, obligatoriu gradul de densitate celulară, gruparea celulară, şi facultativ — la cerere — curbele de maturaţie, coeficientul mitotic, curba mitotică şi cariometria pentru seria roşie.

Rezultate.

Rapoarte :

a) $\frac{\text{Seria mielocitară}}{\text{Seria eritrocitară}} = \frac{3}{1}$ sau $\frac{4}{1}$

b) $\frac{\text{Seria mielocitară}}{\text{Seria limfocitară}} = \frac{10}{1}$

c) $\frac{\text{Seria mielocitară}}{\text{Elem. reticulohistiocitare}} = \frac{10}{0,5}$ sau $\frac{10}{1}$

d) $\frac{\text{Proeritroblaşti}}{\text{Eritroblaşti}} = \frac{1}{15}$

e) $\frac{\text{Granulocite}}{\text{Eritroblaşti}} = 4,3\,\%$

f) $\frac{\text{Granulocite}}{\text{Limfociţi + monociţi}} = 5,5\,\%$

Scanned with OKEN Scanner

Indici :

a) Indicele mitotic global = 15‰
(40% în profază, 45% în metafază,
10% în anafază, 5% în telefază)
b) Indicele mitotic al seriei albe = 9,3‰
c) Indicele mitotic al seriei roşii = 15,3‰
d) Indicele mitotic al seriei plasmocitare = 0,4‰
e) Indicele de regenerare normală

$$\frac{\text{Reticulocite}}{\text{Elemente roşii}} = 30\text{—}40‰$$

f) *Indicele seriilor hematopoetice în mielogramă :*

— seria granulocitară = 60%
— seria eritrocitară = 20%
— seria limfocitară = 5%
— celule reticulare = 15%

Valori normale ale mielogramei

După Rohr

Seria mieloidă 57—60%	— Mieloblaşti		1 — 3%
	— Promielocite		2 — 8%
	— Mielocite	N	10 —15%
		B	0,5— 1%
		E	1 — 3%
	— Metamielocite	N	30 —40%
		B	0 — 1%
		E	2 — 3%
	— Granulocite nesegmentate	N	15 —25%
		B	0 — 1%
		E	2 — 3%
	— Granulocite segmentate	N	15 —20%
		B	0 — 1%
		E	1 — 3%
Seria eritrocitară 20—25%	— Proeritroblaşti		1 — 3%
	— Eritroblaşti bazofili		2 — 6%
	— Eritroblaşti policromatofili		12 —15%
	— Eritroblaşti oxifili		8 —10%
Seria limfocitară 5—10%	— Limfocite		5 —10%
Seria reticulară 5—10%	— Hemohistioblaşti		0 — 1%
	— Plasmocite		1 — 2%
	— Monocite		3 — 4%
	— Histiocite		1 — 2%
Seria megacariocitară 0,5—1%	— Megacariocite		0,5 — 1%

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Soluţie Giemsa*	15 ml
	Soluţie May-Grünwald	200 ml

6. MEGACARIOGRAMA

Reactivi : soluţie Giemsa ; apă distilată.

Tehnică. Se recoltează cu pipeta capilară de hemoglobină suc medular pînă la diviziunea 0,02 ml, care se depune apoi pe o lamă bine degresată sub formă de picătură groasă şi se lasă să se usuce. Se adaugă apă distilată pentru hemolizare pînă cînd nu se mai detaşează nori de hemoglobină. Se colorează cu soluţie Giemsa (1 picătură la 1 ml apă), timp de 20 de minute. Se examinează la microscop cu obiectivul cu imersie pe toată întinderea picăturii.

Formula megacariocitară se efectuează pe frotiu.

Rezultate.

Numărul de megacariocite = 500—4 000 elemente/ml.

Formula megacariocitară :	
Promegacariocit	3,3%
Megacariocit trombocitogen	18—38%
Megacariocit netrombocitogen	43—79%
Nuclei liberi	5—25%

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Soluţie Giemsa*	15 ml

SPLINA

PUNCŢIA SPLENICĂ. SPLENOGRAMA

Reactivi : soluţie colorantă May—Grünwald—Giemsa ; alcool rectificat ; tinctură de iod.

Tehnică. După anestezierea tegumentelor (ceea ce la adulţi poate lipsi), se aşază bolnavul pe partea dreaptă cu mîna sub cap şi musculatura membrelor inferioare relaxată. În zona mată din dreptul ultimelor spaţii intercostale, după dezinfecţia tegumentelor cu alcool şi tinctură de iod, se înfige brusc un ac steril lung de 7 cm, cu diametrul de 0,8—1 mm, la o adîncime de 4—5 cm, bolnavul fiind în inspiraţie forţată. Aproape instantaneu cu înfigerea acului se adaptează seringa de 5 ml şi se aspiră o singură dată puternic. Se lasă pistonul să revină la poziţia iniţială, se extrage acul brusc şi, la locul puncţiei, se aplică pe tegumente un tampon. Dacă în seringă a apărut, în momentul aspiraţiei sînge, puncţia nu

Scanned with OKEN Scanner

s-a efectuat corect şi trebuie repetată. După extragere, prin apăsarea pistonului seringii se elimină, pe cîteva lame degresate, conţinutul de pulpă splenică aflat în lumenul acului cu care se efectuează frotiuri şi se colorează după tehnica obişnuită cu colorant May—Grünwald—Giemsa.

Contraindicaţii. Sindroamele hemoragice, bolile infecţioase, spline palpabile.

Rezultate. *Splenograma normală,* care trebuie raportată la o hemogramă făcută în aceeaşi zi cu puncţia splenică, are următoarea formulă :

Limfocite adulte Prolimfociţi Limfoblaşti	56 %
Monocite	14 %
Plasmocite	1 %
Granulocite neutrofile	14 %
Granulocite eozinofile	1 %
Elemente mononucleare	14 %

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Soluţie Giemsa*	15 ml
	Tinctura jodi	200 ml
	Soluţie May-Grünwald	200 ml

GANGLIONUL LIMFATIC

PUNCŢIA GANGLIONARĂ. ADENOGRAMA

Reactivi : soluţie May—Grünwald—Giemsa ; alcool rectificat ; tinctură de iod.

Tehnică. Se puncţionează primul ganglion şi ultimul ganglion apărut în cursul adenopatiei care face obiectul examenului. Nu se vor puncţiona ganglionii iradiaţi. Ganglionul care urmează a se puncţiona trebuie să poată fi fixat pe un plan cît mai dur.

Regiunea se dezinfectează cu alcool rectificat, apoi cu tinctură de iod, după care ganglionul se puncţionează cu un ac de 7 cm lungime şi 1 mm diametru, sterilizat în prealabil prin căldură uscată. După pătrunderea în parenchimul glandular se aspiră cu o seringă de 10 ml, adaptată la ac prin mişcări bruşte, după care se retrage acul. Conţinutul acului se depune pe 2—3 lame degresate, se face frotiul respectiv, se colorează şi se examinează cu obiectivul cu imersie.

Rezultate.

Adenograma normală

Limfocite	67,8—90,0 %
Prolimfocite	5,3—16,4 %
Limfoblaşti	0,1—0,9 %
Promonocite	0—0,5 %
Monocite	0,2—7,4 %
Plasmocite	0—4,7 %
Mastocite	0—0,5 %

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Soluţie Giemsa*	15 ml
	Tinctura jodi	200 ml
	Soluţie May-Grünwald	200 ml

FICATUL

PUNCŢIA HEPATICĂ. HEPATOGRAMA

Reactivi : soluţie May-Grünwald-Giemsa ; novocaină 0,2 g.

Tehnică. Pentru abordarea ficatului se pot utiliza două căi de acces :

Anterioară (numai în hepatomegalii), imediat sub rebordul costal, îndreptînd acul oblic în sus pentru a străbate cît mai mult parenchim şi a evita vasele hilului.

Axilară transpleurală, din spaţiul al IX-lea intercostal. Acul străbate spaţiul pleural, diafragmul şi peritoneul parietal şi pătrunde parenchimul hepatic. Pentru puncţie, bolnavul este aşezat în decubit lateral stîng; se anesteziază tegumentele şi toate planurile cu soluţie novocaină 1%. Acul utilizat pentru puncţie este lung de 8—10 cm cu un diametru obişnuit dacă se intenţionează recoltarea de material pentru frotiuri şi de calibru gros, cu mandren cu vîrf bine ascuţit, dacă se urmăreşte obţinerea unui fragment biopsic de ţesut hepatic. După străpungerea tegumentelor, i se dă acului orientarea necesară pentru a străbate capsula ficatului şi a pătrunde în parenchim. Se va indica bolnavului să rămînă în inspiraţie forţată din momentul în care acul transvazează pleura şi peritoneul, pentru a se evita apariţia reflexelor nervoase. Acul se introduce la o adîncime de circa 22 cm în parenchimul hepatic, se retrage mandrenul, se mai înaintează cu încă 2—3 cm în timp ce se aspiră moderat cu seringa adaptată la ac. Se retrage brusc acul, se aplică un tampon cu tinctură de iod şi se recomandă bolnavului să rămînă timp de 24 de ore în decubit dorsal în care timp va fi sub control permanent medical.

Cu materialul recoltat se efectuează frotiuri prin amprente care se colorează după tehnica obişnuită cu colorant May-Grünwald-Giemsa, sau se fixează prin tehnicile histologice.

Rezultate. În cazuri patologice se întîlnesc, fie elemente mieloide sau eritroblastice, fie celule neoplazice.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Soluţie Giemsa*	15 ml
	Novocaină soluţie 1%	300 ml
	Tinctura jodi	200 ml
	Soluţie May-Grünwald	200 ml

Scanned with OKEN Scanner

II. EXPLORAREA COAGULĂRII SÎNGELUI

A. NOȚIUNI GENERALE DE TEHNICĂ

a) *Produsul de examinat:* sînge total stabilizat, plasmă sau ser, după necesități (factorii cercetați, tehnica utilizată etc.).

b) *Tehnica de recoltare:* se recoltează sînge venos, obținut cu ajutorul unei staze venoase moderate și cu următoarele precauții:

— utilizarea acelor de calibru mare;

— puncționarea venelor de la prima încercare, spre a evita amestecul tromboplastinei tisulare cu sîngele recoltat;

— îndepărtarea primilor 2 ml sînge prelevați cu prima seringă și recoltarea cu o a doua seringă a sîngelui venos necesar efectuării probelor;

— repartizarea rapidă a sîngelui recoltat în eprubete de centrifugă gradate conținînd anticoagulant, în cazul utilizării plasmei pentru efectuarea probelor.

c) *Separarea plasmei de elementele figurate:* se efectuează prin centrifugare, timp de 3—5 minute, la 1 500 de turații pe minut, obținîndu-se o plasmă bogată în trombocite (prelungirea timpului de centrifugare duce la obținerea unei plasme, săracă în trombocite).

d) *Împiedicarea distrugerii parțiale a trombocitelor* și eliberarea consecutivă a factorului tromboplastinic trombocitar se poate realiza prin utilizarea seringelor și acelor unse cu ulei de parafină; centrifugarea sîngelui în eprubete parafinate sau utilizarea întregului material de recoltare a sîngelui după siliconare prealabilă (vezi tehnica siliconării la pag. 284).

e) *Substanțele stabilizatoare și anticoagulante* utilizate sub formă de soluții în explorarea coagulării sîngelui sînt:

— *oxalatul de sodiu* ($Na_2C_2O_4$), soluție 0,1 M (1,34 g%) în apă distilată. Proporția: 1 ml soluție oxalat pentru 9 ml sînge. Se utilizează în majoritatea probelor întrucît nu blochează decît calciul ionizabil.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 12 148 +) *Natrium oxalicum cryst.* p. a. . . . 1,34 g

— *citratul trisodic* ($C_6H_5Na_3O_7 + 2\ H_2O$), soluție 3,8 g%, 1 ml la 9 ml sînge; soluție 19 g%, 1 ml la 49 ml sînge; soluție 9 g%, 0,5 ml la 9,5 ml sînge. Nu se folosește în prepararea plasmei adsorbite sau a plasmei lipsite de factorul V.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 11 900 +) *Natrium citricum tribasicum* chimic pur după soluția folosită — 3,8 g, 9 g sau 19 g

— *Amestecul Wintrobe*

Oxalat de amoniu	1,2 g
Oxalat de potasiu	0,8 g
Apă distilată	100 ml

1 ml amestec la 9 ml sînge

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 9 753 +) *Kalium oxalicum* p. a. . . . . 0,80 g
Cod 12 148 +) *Natrium oxalicum cryst.* p. a. . . . . 1,2 g

— Etilendiaminotetracetat de sodiu (versenat de sodiu, Sequestren Na_2) soluție 5 g% în soluție clorurosodică izotonică 1 ml la 9 ml sînge. Se folosește în cazul preparării unei plasme libere de trombocite sau a unei suspensii trombocitare.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 16 108 *Titriplex III* p. a. . . . . 0,5 g

B. EXPLORAREA COAGULABILITĂȚII TOTALE A SÎNGELUI

1. TIMPUL DE COAGULARE A SÎNGELUI INTEGRAL

Recoltarea sîngelui: capilar provenit din pulpa degetului, utilizîndu-se a doua picătură, prima fiind contaminată cu lichid interstițial sau venos, recoltat pe stabilizator anticoagulant.

a) *Determinarea timpului de coagulare a sîngelui capilar* *

Reactivi: soluție clorurosodică izotonică.

Tehnică. Peste picătura de soluție clorurosodică izotonică pusă peste o lamă de sticlă, se lasă să cadă liber o a doua picătură de sînge, obținută prin înțeparea pulpei degetului, antiseptizat cu alcool și eter, cu acul Francke sau un ac de seringă obișnuit. Momentul adăugării picăturii de sînge se notează (cu cronometrul), după care lama se introduce într-o cutie Petri, avînd hîrtie umedă pe fund (camera umedă). Examinarea picăturii începe la 2 minute de la preparare, prin încercare cu vîrful unei pipete Pasteur închise, sau prin înclinare. Operația se repetă la fiecare 30 de secunde.

Rezultate. Primul filament de fibrină apare la 3 minute. Formarea cheagului apare la 8—10 minute. Cifrele sînt valabile la determinări făcute la temperatura camerei (+20°).

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 11 860 +) *Natrium chloratum* chimic pur . . . 0,85 g

b) *Determinarea timpului de coagulare a sîngelui venos (Lee și White)*

Tehnică. Se recoltează sînge venos. Sîngele recoltat cu o a doua seringă în cantitate de 3 ml (conținutul primei seringi nefolosindu-se), se repartizează rapid în două eprubete — cîte 1 ml în fiecare eprubetă —

* Metoda dă rezultate inconstante. De aceea nu se recomandă utilizarea ei.

Scanned with OKEN Scanner

care se introduc în baia de apă la 37°. În momentul pătrunderii sîngelui în seringă, se declanşează cronometrul. După primele 2 minute se înclină una din eprubete pentru a se vedea dacă meniscul sîngelui este mobil. Se repetă operaţia la 4 minute, apoi din minut în minut, pînă cînd în eprubeta cercetată sîngele nu se mai scurge pe pereţi. Din acest moment se urmăreşte cea de a doua eprubetă la interval de 30 de secunde pînă la apariţia coagulării. Se face media între rezultatele obţinute.

Rezultat. 6—12 minute. Utilizîndu-se materiale siliconate (seringă, ace, eprubete), timpul de coagulare normal este de 18—25 de minute.

2. RETRACŢIA CHEAGULUI

Determinarea retracţiei cheagului comportă două aspecte :

— timpul de retracţie (timpul dintre momentul coagulării şi începerea exprimării serului) ;

— gradul de retracţie (măsura în care se produce micşorarea volumului cheagului).

a) *Metoda celor două eprubete*

Se utilizează eprubetele care au servit la determinarea timpului de coagulare. Acestea se păstrează în continuare, după apariţia cheagului, la baie de apă la +37° şi se examinează din 30 în 30 de minute, fără a fi agitate. Se notează momentul apariţiei serului.

Rezultate. 1—3 ore. Volumul de ser exprimat este egal cu volumul cheagului.

b) *Metoda Hirschboeck*

Reactivi : ulei de ricin.

Tehnică. Se recoltează sînge capilar, prin înţeparea pulpei degetului, în pipeta de hemoglobină. Într-o eprubetă de hemoliză se pune o mică cantitate de ulei de ricin, după care sîngele din pipetă este depus pe suprafaţa uleiului de ricin aşa fel, încît să formeze o singură picătură. Se astupă eprubeta şi se lasă la temperatura camerei, se examinează după 10 minute şi apoi din 5 în 5 minute, pînă se observă un inel gălbui (serul exprimat) între conturul picăturii de sînge şi uleiul de ricin.

Rezultate. Apariţia inelului la 20—40 de minute. Dacă se depăşesc 50 de minute, reacţia este patologică.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 13 349 *Oleum ricini* p. a. . . . . 50 ml

c) *Metoda Macfarlane*

Tehnică. Într-o eprubetă de centrifugă gradată se introduc 5 ml sînge recoltat prin puncţie venoasă. Eprubeta se închide cu un dop prin care trece o baghetă de sticlă prezentînd mici neregularităţi în partea inferioară şi care pătrunde pînă la 1 cm de fundul eprubetei. Eprubeta

Scanned with OKEN Scanner

se introduce în baia de apă la +37° pînă cînd se produce coagularea sîngelui. Se notează timpul, după care eprubeta este introdusă în termostat la +37°, unde se menține o oră. După acest interval de timp se scoate dopul eprubetei și o dată cu el bagheta de sticlă care ridică și cheagul. Se citește cantitatea de ser rămasă în eprubetă în mililitri și se face procentul față de volumul de sînge inițial.

Rezultate : 48—64%, valoarea medie 54,7%.

3. TIMPUL DE COAGULARE A PLASMEI RECALCIFIATE (Howel)

Reactivi : soluție oxalat de sodiu 0,1 M (M/10) ; soluție clorură de calciu 0,025 M (M/40).

Prepararea soluțiilor

Soluția de oxalat de sodiu 0,1 M :

Oxalat de sodiu	1,34 g
Apă distilată	100 ml

Soluția de clorură de calciu 0,1 M (mamă)

Clorură de calciu *siccum* pt. a. . . .	1,11 g
Apă distilată	100 ml

din care, la nevoie, se prepară soluția 0,025 M (M/40) prin amestecul unei părți cu 3 părți apă distilată.

Tehnică. Se recoltează sînge venos, cu o seringă de 5 ml în care se pune în prealabil 0,5 ml soluție oxalat de sodiu sau, într-o eprubetă de centrifugă gradată, 4,5 ml sînge peste 0,5 ml soluție oxalat. Se omogenizează, se transvazează într-o eprubetă și se centrifughează imediat, timp de 5 minute, la 1 500 de ture. Se decantează plasma. Într-o eprubetă de hemoliză se pun 0,2 ml din plasma rezultată după centrifugare, la care se adaugă 0,2 ml soluție clorură de calciu M/40 și se introduce în baia de apă la + 37°, declanșîndu-se cronometrul. Se urmărește din 15 în 15 secunde apariția filamentelor de fibrină. După 1 minut citirea se face din 10 în 10 secunde. Reacția este considerată terminată cînd apare cheagul care imobilizează plasma. În acest moment se citește timpul pe cronometru.

Rezultate : 90—135 de secunde, timp Howel, considerat normal.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 5 040 +) *Calcium chloratum anhydricum* purificat . . . . . 0,25 g

Cod 12 148 +) *Natrium oxalicum cryst.* p. a. . . 0,70 g

4. TESTUL DE TOLERANȚĂ LA HEPARINĂ
(Soulier—Le Bolloch)

Reactivi : soluție oxalat de sodiu 0,1 M ; soluție clorură de calciu 0,025 M ; heparină.

Prepararea diluțiilor de heparină

Se fac diluții de heparină în soluții de clorură de calciu M/40, în așa fel încît în 0,5 ml clorură de calciu să se obțină 3 concentrații diferite de heparină :

Tubul 0 =0,5 ml soluție clorură de calciu M/40
Tubul 1 =0,5 ml soluție clorură de calciu M/40+0,3 u. i. heparină
Tubul al 2-lea=0,5 ml soluție clorură de calciu M/40+0,7 u. i. heparină
Tubul al 3-lea=0,5 ml soluție clorură de calciu M/40+1 u. i. heparină

Scanned with OKEN Scanner

Aceste concentrații se obțin dintr-o soluție mamă (a) clorură de calciu M/40 25 ml+0,1 ml heparină (care conține 20 de unități heparină/1 ml) astfel :

— 1 ml soluție mamă+ 9 ml clorură de calciu M/40= 1 u./0,5 ml (b)
— 0,7 ml soluție b +0,3 ml clorură de calciu M/40=0,7 u./0,5 ml (c)
— 0,3 ml soluție b +0,7 ml clorură de calciu M/40=0,3 u./0,5 ml (d)

Soluția mamă se păstrează la frigider la +4° sau congelată.

Tehnică. Se recoltează 5 ml sînge venos și se stabilizează cu oxalat de sodiu. Se centrifughează. Plasma rezultată se decantează și se repartizează cîte 0,5 ml în cele 4 eprubete cu diluții de clorură de calciu M/40 și heparină ținute la baie de apă la 37°.

Adăugarea plasmei se face începînd cu tubul 3. Se pornește cronometrul atunci cînd se adaugă plasma în tubul 0. Tubul 0 se citește din 15 în 15 secunde, în tuburile 1, al 2-lea și al 3-lea, din minut în minut, citirea făcîndu-se lent, prin înclinarea eprubetelor la 45°. Reacția se consideră terminată cînd, răsturnînd eprubetele, nu se scurge nici o serozitate.

Rezultate.

Eprubeta 0 (nu conține heparină) timp de recalcifiere	2′30″
Eprubeta 1 (0,3 u. heparină) timp de recalcifiere	4′5″
Eprubeta a 2-a (0,7 u. heparină) timp de recalcifiere	6′—8′
Eprubeta a 3-a (1 u. heparină) timp de recalcifiere	10′—12′

Froment exprimă rezultatul testului de coagulare în prezența heparinei prin indicele de coagulabilitate după formula :

$$\text{i.c.} = \frac{H^{IV}m \text{ (ultima cifră de coagulare a martorului)}}{H^{IV}b \text{ (ultima cifră de coagulare a bolnavului)}} = 0{,}8—1{,}2$$

Indicele de coagulabilitate mai mare de 1,2 exprimă o stare de hipercoagulabilitate ; mai mic de 0,8 o stare de hipocoagulabilitate.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 5 040 +)	*Calcium chloratum anhydricum* purificat	0,25 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	0,70 g
	Heparină 5 000 u.i.	2 fiole

C. EXPLORAREA PRIMEI FAZE A COAGULĂRII

1. CONSUMUL DE PROTROMBINĂ

Reactivi : oxalat de sodiu ; tromboplastină fiole ; sulfat de bariu ; plasmă umană deprotrombinizată (adsorbită) ; fosfat tricalcic.

Prepararea plasmei umane adsorbite

Metoda cu sulfat de bariu

Se recoltează sînge pe oxalat de sodiu de la o persoană normală și se centrifughează la 2 000 de ture, timp de 10 minute. Se prepară o suspensie de 10% sulfat de bariu chimic pur în apă distilată. Se centrifughează într-o eprubetă 2 ml suspensie timp de 15 minute, la 3 000 ture, se decantează lichidul supernatant, se usucă pereții interiori ai eprubetei cu hîrtie de filtru și peste sulfatul de bariu

Scanned with OKEN Scanner

se adaugă 2 ml plasmă normală. Se agită cu o baghetă conținutul eprubetei, amestecîndu-se plasma cu sulfatul de bariu și se lasă în contact 15 minute la +37°, agitînd din cînd în cînd. Se centrifughează plasma supernatantă decantată folosită ca sursă de fibrinogen, timp de 20 de minute, la 3 000 de ture.

Metoda cu fosfat tricalcic

Fosfatul tricalcic se prepară din :

Fosfat trisodic	158 g
Apă distilată	1 000 ml

peste care se adaugă, amestecînd continuu :

Clorură de calciu anhidră . . .	66,6 g
Apă distilată	1 000 ml

Se corectează pH-ul cu acid clorhidric N/1 pînă devine neutru (pH=7).

Precipitatul de fosfat tricalcic rezultat din reacție se spală de 2—3 ori cu apă, apoi cu apă distilată. Operația durează 15—20 de zile, așteptîndu-se după fiecare spălare sedimentarea precipitatului. După ultima spălare se prepară un gel de fosfat tricalcic 0,2 M (mamă) prin aducerea la volum de 1 000 ml apă distilată care la temperatura de +4° se poate conserva timp îndelungat, controlîndu-se periodic și readucînd pH-ul la 7.

La utilizare se face o diluție la 0,008 M prin adăugarea a 1 ml fosfat tricalcic 0,2 M la 24 ml apă distilată.

Metoda de obținere a plasmei adsorbite este cea arătată la utilizarea sulfatului de bariu cu corectivul că după decantare, plasma se recentrifughează 10 minute, la 3 000 ture pentru a se îndepărta complet fosfatul tricalcic.

Tromboplastina calcică se prepară astfel : conținutul unei fiole de tromboplastină liofilizată se amestecă cu 1,5 ml soluție clorurosodică izotonică. Se incubează la baie de apă 37°, timp de 1 oră și jumătate, agitîndu-se din 10 în 10 minute.

După ultima agitare, tromboplastina se lasă in repaus 5 minute pentru sedimentarea grunjilor mari și se lucrează cu supernatantul. Pentru a obține tromboplastina calcică, se amestecă în părți egale, tromboplastina preparată, cu clorură de calciu M/40.

Tehnică. Se recoltează două probe de sînge, de cîte 5 ml de la bolnav și de la martor, fără anticoagulant. Acestea se lasă să coaguleze în eprubete uscate. După terminarea coagulării se notează timpul și se lasă 4 ore la baie de apă (+ 37°). Se decantează apoi serul, se centrifughează și se cercetează activitatea protrombinică a serului de cercetat, față de cel al serului martor (normal) utilizînd următoarea metodă :

În 2—3 eprubete de hemoliză se repartizează cîte 0,1 ml ser obținut după centrifugare și se incubează la baie de apă la 37°, timp de 15 minute. Apoi se adaugă cîte 0,2 ml tromboplastină calcică, declanșîndu-se cronometrul.

După 60 de secunde se adaugă 0,1 ml plasmă adsorbită, determinîndu-se timpul de coagulare, din momentul adăugării plasmei adsorbite.

Se repetă determinarea și cu serul martor.

Rezultate. Consumul de protrombină după 4 ore de la coagulare se exprimă în unități de timp comparativ cu martorul (45 de secunde — 1,30 de minute) ; sau în procente de protrombină (70—80%) în care scop se stabilește cantitatea inițială prin determinarea timpului Quick în plasma cercetată (valoarea obținută în secunde = 100%) și se construiește curba de activitate procentuală prin determinarea timpului Quick la diferite diluții de plasmă (90%—5%). Consumul de protrombină sub 30% indică o diateză hemoragică gravă de tip hemofilic ; pînă la 50%, trombopatii.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 3 840	*Barium sulfuricum* p. a.	20 g
Cod 5 040 +)	*Calcium chloratum anhydricum* purificat	90 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	1 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	10 g
Cod 12 228 +)	*Natrium phosphoricum tribasicum* p. a.	200 g
Cod 18 028	*Acidum hydrochloricum* N/1	25 ml
	Tromboplastină liofilizată 1 ml . . .	10 fiole

2. GENERAREA TROMBOPLASTINEI (Biggs şi Douglas)

Reactivi : soluţie citrat trisodic 3,8% ; soluţie clorură de calciu M/40 ; soluţie clorurosodică izotonică (9‰) ; plasmă substrat (fără trombocite) ; suspensie trombocitară în soluţie clorurosodică izotonică ; factor A.H.G. (antihemofilic A) ; factor P.T.C. (antihemofilic B).

Prepararea soluţiilor

Soluţia clorură de calciu M/40

Clorură de calciu anhidră . . .	0,277 g
Apă distilată	100 ml

Plasma substrat

Se recoltează de la martor normal 9 ml sînge care se stabilizează cu 1 ml citrat trisodic soluţie 3,8%, utilizînd întregul material de recoltare siliconat. Sîngele se centrifughează timp de 10 minute, la 1 000 turaţii în eprubetă siliconată. Se decantează plasma cu pipetă siliconată şi se recentrifughează timp de 20 de minute la 6 000 de turaţii. Plasma obţinută este atrombocitară şi foloseşte ca plasmă substrat.

Suspensia trombocitară

Se prepară prin spălarea depozitului de trombocite rămas după prima centrifugare, în fundul eprubetei siliconate, de 2 ori cu cîte 5 ml soluţie clorurosodică izotonică, amestecîndu-se de fiecare dată cu o baghetă de lemn, pentru a reface suspensia. După spălare, trombocitele se resuspendă într-un volum egal cu 1/3 din volumul iniţial al plasmei de soluţie clorurosodică izotonică.

Factorul A.H.G. (antihemofilic A)

Se obţine prin adsorbirea cu sulfat de bariu sau fosfat tricalcic a unei cantităţi de 1 ml plasmă oxalatată.

Factorul P.T.C. (antihemofilic B)

Se obţine din serul rămas după coagularea şi retracţia cheagului sîngelui normal recoltat fără anticoagulant. Serul este păstrat timp de 24 de ore, la temperatura camerei pentru inactivarea trombinei şi tromboplastinei. La utilizare, serul se diluează 1/10 cu soluţie clorurosodică izotonică.

Tehnică. Se pun 8 eprubete de hemoliză, conţinînd fiecare cîte 0,1 ml plasmă substrat, la baie de apă la 37° şi o eprubetă cu 10—15 ml soluţie de clorură de calciu M/40, imediat înaintea efectuării testului.

Într-o altă eprubetă se face amestecul următor, generator de tromboplastină :

0,3 ml suspensie trombocitară
0,3 ml plasmă adsorbită, diluată 1/5 (factor A.H.G.)
0,3 ml ser vechi diluat 1/10 (factor P.T.C.)
După introducerea în baie de apă se adaugă :
0,3 ml clorură de calciu soluţie M/40.

Scanned with OKEN Scanner

Se notează timpul. După 1 minut se ia cu o pipetă 0,1 ml din amestec şi cu o altă pipetă 0,1 ml clorură de calciu. Se suflă concomitent ambele soluţii în prima eprubetă cu plasmă substrat şi se cronometrează timpul necesar coagulării. Se repetă reacţia la interval de 1 minut cu restul de 7 eprubete.

Rezultate. Se exprimă în secunde obţinute cu diferitele amestecuri comparativ cu valorile obţinute cu amestecuri de factori normali.

Generarea tromboplastinei este maximum de 3—4 minute, coagulînd plasma substrat în 8—10 secunde.

Diagnosticarea factorului deficient la bolnav se face folosind un generator de tromboplastină în care factorul preparat din sîngele normal este înlocuit cu corespondentul său preparat din sîngele provenit de la bolnav, după următorul sistem :

Factorul care se cercetează	Generator de tromboplastină		
	Suspensie trombocitară	Plasmă adsorbită	Ser
A.H.G. (antihemofilic A)	normal	bolnav	normal
P.T.C. (antihemofilic B)	normal	normal	bolnav
trombocitar	bolnav	normal	normal

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 3 840 *Barium sulfuricum* p. a. . . . . 2 g
Cod 5 040 +) *Calcium chloratum anhydricum* purificat . . . . . 0,25 g
Cod 11 860 +) *Natrium chloratum* chimic pur . . . 6 g
Cod 11 900 +) *Natrium citricum tribasicum* chimic pur 4 g

3. CORECTAREA TIMPULUI DE RECALCIFIERE

Reactivi : soluţie oxalat de sodiu 1,34% ; soluţie clorurosodică izotonică 9‰ ; soluţie clorură de calciu 0,025 M (M/40) ; suspensie sulfat de bariu 10% ; plasmă normală proaspătă ; plasmă proaspătă adsorbită ; ser vechi ; plasmă de bolnav.

Tehnica serveşte în diagnosticul hemofiliei, diferenţierea timpului de hemofilie şi prezenţa unui anticoagulant circulant.

Prepararea reactivilor

Soluţia de clorură de calciu 0,025 M (M/40)

Clorură de calciu anhidră pt. a. . . 0,277 g
Apă distilată . . . . . 100 ml

Plasma normală proaspătă : se recoltează 4,5 ml sînge de la martor normal, se amestecă cu 0,5 ml oxalat de sodiu 1,34%, se centrifughează la 1 500 de turaţii, timp de 5 minute şi se decantează plasma supernatantă. Conţine factorii A.H.G. şi P.T.C.

Plasma proaspătă adsorbită se prepară după tehnica văzută la pag. 263 (consumul de protrombină). Conţine factorul A.H.G.

Scanned with OKEN Scanner

Serul vechi se prepară din serul obținut prin recoltarea a 5 ml sînge fără anticoagulant. Se separă după 24 de ore serul rezultat, prin centrifugare și se păstrează timp de 2—3 zile la frigider (+4°). Conține factor P.T.C.

Plasma de bolnav se obține prin centrifugare la 1 500 de turații, timp de 5 minute, a 4,5 ml sînge amestecat cu 0,5 ml oxalat de sodiu 1,34%. Plasma decantată se folosește în primele 2—3 ore de la recoltarea sîngelui.

Tehnică. În 3 eprubete de hemoliză se pun cîte 0,8 ml soluție clorurosodică izotonică după care se adaugă în prima eprubetă 0,2 ml plasmă normală proaspătă, în a doua eprubetă 0,2 ml plasmă adsorbită și în a treia eprubetă 0,2 ml ser vechi. Astfel factorii antihemofilici se găsesc în eprubete în diluție 1/5.

În alte 6 eprubete de hemoliză se pun :

eprubeta I : 0,15 ml plasmă de bolnav + 0,05 ml plasmă normală diluată 1/5

eprubeta a II-a : 0,10 ml plasmă de bolnav + 0,10 ml plasmă normală diluată 1/5

eprubeta a III-a : 0,15 ml plasmă de bolnav + 0,05 ml plasmă normală adsorbită diluată 1/5

eprubeta a IV-a : 0,10 ml plasmă de bolnav + 0,10 ml plasmă normală adsorbită diluată 1/5

eprubeta a V-a : 0,15 ml plasmă de bolnav + 0,05 ser vechi diluat 1/5

eprubeta a VI-a : 0,10 ml plasmă de bolnav + 0,10 ml ser vechi diluat 1/5.

Pentru determinarea timpului de recalcifiere se pune pe rînd fiecare eprubetă la baie de apă (+ 37°) în care se adaugă 0,2 ml soluție clorură de calciu 0,025 M și se cronometrează pînă la apariția cheagului. În paralel se determină timpul de recalcifiere a plasmei bolnavului (0,2 ml plasmă de bolnav + 0,2 ml clorură de calciu) și a plasmei normale nediluate (0,2 ml plasmă normală + 0,2 ml clorură de calciu).

Rezultate.

Hemofilie A : normalizarea timpului de recalcifiere cu adaos de plasmă adsorbită și plasmă normală și lipsa de normalizare cu adaos de ser vechi ;

Hemofilie B : normalizarea timpului de recalcifiere cu plasmă normală și ser vechi și lipsă de normalizare cu plasmă adsorbită ;

Prezența unui anticoagulant în circulație : alungirea timpului de recalcifiere în eprubetele I și a II-a sau corectarea parțială numai în eprubeta a II-a.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 3 840 *Barium sulfuricum* p. a. . . . . 20 g

Cod 5 040 +) *Calcium chloratum anhydricum* purificat . . . . . 1 g

Cod 11 860 +) *Natrium chloratum* chimic pur . . . . 6 g

Cod 12 148 +) *Natrium oxalicum cryst.* p. a. . . . . 2 g

4. DOZAREA FACTORILOR ANTIHEMOFILICI A ŞI B

(Soulier, Larrieu)

Reactivi : oxalat de sodiu soluţie 1,34% ; plasmă de hemofilie A (factor A.H.G.) ; plasmă de hemofilie B (factor P.T.C.) ; extract trombocitar ; citrat trisodic soluţie 3,8% ; clorură de sodiu soluţie izotonică 8,5‰.

Prepararea reactivilor

Plasma de bolnav. Se recoltează sînge de la bolnav hemofilic A pe oxalat de sodiu şi, prin centrifugare, se obţine plasma, după tehnica următoare : se amestecă într-o eprubetă siliconată 9 ml sînge cu 1 ml oxalat de sodiu şi se centrifughează timp de 20 de minute la 2 000 de turaţii. Se decantează plasma care se centrifughează la rece timp de 1 oră, la 4 000 de turaţii, la temperatura de +1°. După 24 de ore de conservare la frigider la —1°, se centrifughează din nou timp de 1 oră, la 4 000 de turaţii şi la +1° în centrifuga cu răcire. Această plasmă fiind lipsită de trombocite, nu mai coagulează la recalcifiere. Se conservă la —20°, în fracţiuni de 0,5 ml. Plasma provenită de la bolnav hemofilic B se prepară şi se conservă după aceeaşi metodă.

Extractul trombocitar se prepară din 500 ml sînge normal stabilizat cu citrat trisodic 3,8% în proporţie de 1/9. Se centrifughează 5 minute la 1 800 de turaţii, se decantează plasma care se recentrifughează timp de 5 minute, la 800 de turaţii. Plasma supernatantă după decantare se centrifughează o oră la temperatura de +1° şi la 4 000 turaţii. După eliminarea plasmei supernatante, depozitul trombocitar este resuspendat în apă distilată, în volum egal cu plasma supernatantă decantată. Cupele conţinînd suspendatul trombocitar, închise ermetic, sînt supuse unui regim termic special (încălzire în baie la +64°, timp de 30 de minute, agitare puternică 15 minute, apoi congelare 8—12 ore la —20°, după care încălzire la 37°, în baie, pentru decongelare). Acest tratament termic se repetă, după care produsul se recentrifughează timp de 5 minute, la 2 000 turaţii pentru îndepărtarea resturilor de trombocite. Se conservă congelat la —20° în fracţiuni de 0,5 ml.

Tehnică. Se obţine plasmă de cercetat de la bolnav din sînge oxalatat după tehnica obişnuită. Se face o diluţie de 1/20 cu soluţie clorurosodică izotonică (8,5‰), se prepară în aceleaşi condiţii în paralel plasma normală martor. La 37°, în baie de apă, se efectuează determinarea timpului de recalcifiere a următoarelor 4 sisteme :

Rezultate.

Reacţia *nr. 1* :	0,1 ml plasmă de hemofilic A 0,1 ml soluţie clorurosodică 8,5‰ 0,1 ml soluţie clorură de calciu 0,025 M	nu trebuie să coaguleze
Reacţia *nr. 2* :	0,1 ml plasmă de hemofilic A 0,1 ml extract trombocitar 0,1 ml soluţie clorură de sodiu 8,5‰ 0,1 ml soluţie clorură de calciu 0,025 M	11′—12′30″ apariţia coagulării
Reacţia *nr. 3* :	0,1 ml plasmă de hemofilic A 0,1 ml extract trombocitar 0,1 ml plasmă normală diluată 1/20 0,1 ml soluţie clorură de calciu 0,025 M	3′,30″—4′ apariţia coagulării
Reacţia *nr. 4* :	0,1 ml plasmă de hemofilic A 0,1 ml extract trombocitar 0,1 ml plasmă de cercetat diluată 1/20 0,1 ml clorură de calciu 0,025 M	X

Scanned with OKEN Scanner

X reprezintă conţinutul în factor antihemofilic A al plasmei de cercetat. Dacă este mai mare ca reacţia nr. 3 înseamnă că plasma de cercetat este săracă în factor antihemofilic A. Pentru determinarea exactă, se repetă reacţia nr. 3 cu diluţii succesive de plasmă normală (1/20—1/200), diluţia de plasmă normală care corespunde timpului X conţinînd aceeaşi cantitate de factor antihemofilic ca şi plasma de cercetat.

Aceeaşi metodă se aplică pentru determinarea factorului P.T.C. (antihemofilic B), prin înlocuirea în reacţie a plasmei de hemofilic A cu cea de hemofilic B.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 11 860 +) *Natrium chloratum* chimic pur . . . 8,50 g
Cod 11 900 +) *Natrium citricum tribasicum* chimic pur 2 g
Cod 12 148 +) *Natrium oxalicum cryst.* p. a. . . . . 2 g

D. EXPLORAREA FAZEI A DOUA A COAGULĂRII

1. TIMPUL DE PROTROMBINĂ (Quick)

Reactivi : oxalat de sodiu soluţie 0,1 M (1,34 g%) ; clorură de calciu soluţie 0,025 M ; clorură de sodiu soluţie izotonică 8,5‰ ; tromboplastină.

Prepararea reactivilor se face după metodele descrise la tehnicile anterioare.

Tehnică. Se recoltează sînge de cercetat pe soluţie de oxalat de sodiu în proporţie de 0,5 ml soluţie la 4,5 ml sînge. În aceleaşi condiţii se recoltează sînge de la martor normal. După centrifugare timp de 5 minute, la 2 000 de turaţii, se decantează plasma.

În eprubeta de hemoliză, ţinută la baie de apă la 37° se pun 0,1 ml plasmă de cercetat şi 0,2 ml tromboplastină calcică şi se declanşează cronometrul. Citirea se face după 5 secunde, 10 secunde sau din secundă în secundă, înclinîndu-se eprubeta uşor, pînă la apariţia cheagului (gelificarea instantanee a conţinutului) cînd cronometrul se opreşte. În paralel se determină timpul Quick pentru plasma normală (martor) în aceleaşi condiţii.

Rezultate. Determinarea timpului de protrombină realizează o determinare globală a activităţii protrombinei, proconvertinei şi proaccelerinei.

Timpul de protrombină Quick se exprimă :

— În secunde faţă de plasma normală (ex. : 16 sec./14 sec.). Timpul de protrombină pentru plasma normală este de 13—16 sec.

— În indice de protrombină :

$$\frac{\text{T.p.n. (timpul de protrombină normal)} \times 100}{\text{T.p.b. (timpul de protrombină la plasma de bolnav)}} = 85\text{—}100\%$$

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 5 040 +)	*Calcium chloratum anhydricum* purificat	0,30 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	0,85 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	0,70 g
	Tromboplastină liofilizată 1 ml . . .	10 fiole

2. DETERMINAREA SPECIFICĂ A PROTROMBINEI ÎNTR-UN TIMP (Owren)

Reactivi : plasmă umană adsorbită; ser uman conservat; soluţie oxalat de sodiu 0,1 M (1,34 g%) ; soluţie oxalat de sodiu 0,15 M (2 g%) : soluţie clorură de calciu 0,025 M (M/40) ; soluţie clorurosodică izotonică (8,5%) ; tromboplastină ; plasmă de cercetat.

Prepararea *plasmei adsorbite şi a soluţiilor* se face după metodele descrise la tehnicile anterioare.

Serul uman conservat. Se recoltează sînge normal pe tromboplastină în proporţie de 0,3 ml soluţie tromboplastină pentru 10 ml sînge. Se amestecă rapid. Se lasă la 37°, timp de 5—6 ore. După coagulare şi retracţia cheagului se centrifughează, se separă serul şi acesta se amestecă cu oxalat de sodiu în proporţie de o parte oxalat pentru 9 părţi ser. Se conservă la frigider la + 4°, timp de 8 zile, după care poate fi folosit ca reactiv. Rolul tromboplastinei este de a provoca consumarea integrală a protrombinei reziduale.

Plasma de cercetat. Se recoltează sînge de la bolnav, stabilizat cu oxalat de sodiu 1,34 g % şi, după tehnica obişnuită, se obţine plasma.

Tehnică. Plasma de cercetat se diluează 1/10 cu soluţie clorurosodică izotonică 8,5‰. În baia de apă, la + 37°, se pun : 0,1 ml plasmă adsorbită, 0,05 ml ser uman conservat, 0,1 ml plasmă de cercetat şi 0,2 ml tromboplastină calcică. Se cronometrează timpul la 10 secunde, la 20 de secunde, apoi din 5 în 5 secunde, pînă la apariţia cheagului.

Rezultate : 25—35 de secunde.

Pentru exprimarea activităţii protrombinice în procente faţă de normal, se construieşte o curbă de plasmă normală, în diluţii succesive, cu soluţie clorurosodică izotonică (8,5‰) începînd de la 1/10 (100% concentraţie protrombină), raportînd timpul de protrombină la concentraţia în protrombină la sută.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 5 040 +)	*Calcium chloratum anhydricum* purificat	0,30 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	0,85 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	0,70 g
	Tromboplastină liofilizată 1 ml . . .	10 fiole

3. DETERMINAREA COMPLEXULUI PROTROMBINĂ-PROCONVERTINĂ (Owren)

Reactivi : oxalat de sodiu soluţie 0,1 M ; clorură de calciu soluţie 0,025 M ; clorură de sodiu soluţie 8,5 g‰ ; tromboplastină ; plasmă normală adsorbită.

Scanned with OKEN Scanner

Prepararea soluţiilor se face după metodele descrise la tehnicile anterioare.

Tehnică. Se recoltează 4,5 ml sînge de cercetat care se stabilizează cu 0,5 ml soluţie de oxalat de sodiu. Prin centrifugare la 2 000 de turaţii, timp de 5 minute, se obţine plasma necesară.

Plasma obţinută se diluează 1/10 cu soluţie clorurosodică izotonică (8,5‰). Într-o eprubetă de hemoliză ţinută în baia de apă la +37° se pun succesiv : 0,1 plasmă de cercetat diluată 1/10, 0,1 ml plasmă adsorbită şi 0,2 ml tromboplastină calcică.

Se cronometrează timpul din momentul adăugării tromboplastinei calcice. Se construieşte o curbă asemănătoare celei descrisă la pag. 270 (determinarea specifică a protrombinei), executată cu o plasmă normală diluată cu soluţie de clorură de sodiu 8,5 g ‰.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 5 040 +)	*Calcium chloratum anhydricum* purificat	0,30 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	0,85 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	0,70 g
	Tromboplastină liofilizată 1 ml . . .	10 fiole

4. DETERMINAREA FACTORULUI V (proaccelerina) (Owren-Koller)

Reactivi : oxalat de sodiu soluţie 0,1 M; clorură de sodiu soluţie izotonică (8,5‰) ; tromboplastină ; clorură de calciu soluţie 0,025 M ; plasmă umană oxalatată conservată (plasmă veche) ; plasmă de cercetat.

Tehnică. Într-o eprubetă de hemoliză, în baia de apă la +37° se pun : 0,1 ml plasmă conservată veche (plasmă umană sterilă citratată păstrată la +37° timp de 48 de ore, apoi conservată la +4°. Plasma este bună de utilizat dacă timpul său de protrombină — Quick — depăşeşte 60 de secunde), 0,1 ml plasmă de cercetat diluată 1/10 în soluţie clorurosodică izotonică şi 0,2 ml tromboplastină calcică. Timpul de coagulare se determină din momentul adăugării tromboplastinei calcice.

Rezultate. Normal 20—25 de secunde.

Se poate exprima în procente faţă de normal, cu ajutorul unei curbe normale care se construieşte pe baza cifrelor obţinute cu plasmă normală diluată 1/10 în soluţie clorurosodică izotonică (100%) şi de la care se fac subdiluţii.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 5 040 +)	*Calcium chloratum anhydricum* purificat	0,30 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	0,85 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	0,70 g
	Tromboplastină liofilizată 1 ml . . .	10 fiole

Scanned with OKEN Scanner

5. DETERMINAREA FACTORULUI VII (proconvertina) (Owren-Koller)

Reactivi : plasmă substrat (fără convertină) ; plasmă normală proaspătă adsorbită ; plasmă de cercetat ; clorură de calciu soluție 0,025 M ; oxalat de sodiu soluție 0,1 M ; tromboplastină ; clorură de sodiu soluție izotonică (8,5‰).

Prepararea plasmei substrat. Plasma substrat se obține prin filtrare, prin filtru Seitz de 6 cm diametru cu 20—30% asbest (amiantă), cu presiune pozitivă sau aspirație asigurînd o viteză de filtrare de 100 ml/oră. După prima filtrare se schimbă placa filtrantă cu alta identică și se refiltrează. Plasma obținută este lipsită de proconvertină, reținută integral de filtru, și parțial de protrombină (timp de protrombină=100 de secunde). Se conservă în loturi de 0,1 ml la —20°.

Prepararea plasmei normale adsorbite cu fosfat tricalcic respectă tehnica de la pag. 264. De asemenea, soluțiile molare de clorură de calciu și oxalat de sodiu.

Tehnică. Se recoltează sînge pe soluție de oxalat de sodiu în proporție de 1/9. Se centrifughează la 1 500 ture, timp de 5 minute. Plasma obținută se diluează 1/10 cu soluție clorurosodică izotonică (8,5‰) sau cu plasmă proaspătă adsorbită. Într-o eprubetă în baia de apă (+ 37°) în ordinea indicată, se pun : 0,1 ml plasmă de cercetat diluată 1/10 ; 0,1 ml plasmă filtrată prin filtru Seitz ; 0,2 ml tromboplastină calcică. Din momentul adăugării tromboplastinei calcice se cronometrează pînă la apariția cheagului.

Rezultate. Coagularea plasmei se produce după 30—35 de secunde de la adăugarea soluției de clorură de calciu. Testul se lucrează în paralel cu mai mulți martori normali. Alterațiile proconvertinei, traduse prin alungirea timpului, reprezintă un test în hepatitele acute și cronice și ca metodă de diagnostic al comei hepatice.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 5 040 +)	*Calcium chloratum anhydricum* purificat	0,30 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	0,85 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	0,70 g
	Tromboplastină liofilizată 1 ml . . .	10 fiole

E. EXPLORAREA FAZEI A TREIA A COAGULĂRII

1. DETERMINAREA CANTITATIVĂ A FIBRINOGENULUI (Leroux)

Reactivi : citrat trisodic soluție 9% ; trombină uscată ; soluție tampon dietil barbiturat de sodiu ; soluție clorurosodică izotonică ; alcool absolut ; eter anhidru.

Tehnică. Se centrifughează la 6 000 de turații, timp de 10 minute, 0,5 ml sînge stabilizat cu 0,5 ml citrat trisodic soluție 9% și se notează volumul plasmei obținute. Într-un recipient cu picior se introduc 5 ml plasmă citratată. În paralel se prepară o soluție de trombină (trombină uscată dintr-un flacon, dizolvată în 5 ml soluție clorurosodică izotonică) din care se ia 1 ml, se pune într-o eprubetă, peste care se adaugă 45 ml soluție tampon din :

Scanned with OKEN Scanner

Dietil barbiturat de sodiu 0,1 M 570 ml (M=206,1 g)
Acid clorhidric N/10 . . . . . 430 ml
Clorură de sodiu . . . . . 5,67 g
Soluţie clorurosodică izotonică 9‰ . . . . . 1 000 ml

Conţinutul eprubetei (46 ml) se varsă în recipientul conţinînd plasma şi se lasă timp de 10 minute, pentru producerea coagulării. Se desprinde apoi cheagul cu o baghetă, se răstoarnă pe un filtru de sită şi se stoarce pentru a elimina serul. După tratare 5 minute în soluţie clorurosodică izotonică, spălarea cu apă distilată şi uscarea în hîrtie de filtru, se ţine în alcool absolut cîteva secunde, se usucă cu hîrtie de filtru, se trece într-o capsulă de eter anhidru după care se usucă şi se introduce la etuvă la 100°, timp de 15 minute. După răcire se cîntăreşte.

Rezultate. Cantitatea de fibrină — deci şi de fibrinogen — raportată la 1 000 ml plasmă se obţine prin calculul următor :

$$F = \frac{P}{n\frac{0{,}50\ n}{v}} = 3{,}50—5{,}50\ g\ ‰$$

în care P = greutatea în mg găsită prin cîntărire
F = fibrogenul în g ‰ plasmă
n = volumul plasmei luate în lucru
v = volumul total al plasmei conţinute de sîngele recoltat (plus soluţia de citrat).

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 1 773 +) *Aether aethylicus absolutus* p. a. . . 500 ml
Cod 2 336 +) *Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . . 500 ml
Cod 11 860 +) *Natrium chloratum* chimic pur . . . 10 g
Cod 11 900 +) *Natrium citricum tribasicum* chimic pur 5 g
Cod 11 920 5-5 *Natrium diaethylbarbituricum* p. a. 25 g
Cod 18 034 *Acidum hydrochloricum* N/10 . . . . 100 ml
Trombină liofilizată . . . . . 20 flacoane

2. EXPLORAREA FIBRINOLIZEI (Macfarlane-Biggs)

Reactivi : citrat trisodic soluţie 9% ; soluţie veronal acetat ; clorură de calciu N/20 ; acid clorhidric N/10 ; soluţie clorurosodică izotonică (8,5 ‰) ; trombină uscată.

Prepararea soluţiilor

Soluţie veronal acetat :
Acetat de sodiu . . . . . 9,714 g
Veronal sodic . . . . . 14,714 g
Apă distilată . . . . . 500 ml

Soluţie clorurosodică izotonică tamponată :
Soluţie veronal acetat . . . . 5 ml
Acid clorhidric N/10 . . . . . 5 ml
Soluţie clorură de sodiu izotonică 8,5‰ 90 ml

Tehnică. Plasma rezultată după centrifugarea sîngelui recoltat pe citrat trisodic (0,5 ml la 9,5 ml sînge) se decantează și se diluează 1/16, 1/32, 1/64 cu soluție clorurosodică tamponată.

Din fiecare diluție se pun cîte 1,6 ml în două serii a 3 eprubete. Conținutul eprubetelor din prima serie se coagulează cu o picătură de soluție trombină, iar cel din eprubetele seriei a doua cu 0,1 ml soluție clorură de calciu M/20. Eprubetele bine astupate se introduc în termostat la 37° și se lasă timp de 24 de ore, după care se controlează dacă cheagul a fost lizat.

Rezultate. Se apreciază prin comparație între liza cheagului din plasma normală și cel din plasma de cercetat.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 5 040 +)	*Calcium chloratum anhydricum* purificat	3,5 g
Cod 11 641	*Natrium aceticum* p. a.	5 g
Cod 11 860	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	8,5 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	5 g
Cod 11 920	5-5 *Natrium diaethylbarbituricum* p. a.	7,5 g
Cod 18 034	*Acidum hydrochloricum* N/10	5 ml
	Trombină liofilizată	20 flacoane

3. DETERMINAREA TIMPULUI DE SÎNGERARE

Tehnică. După antiseptizare cu alcool și eter, se înțeapă lobul urechii pe fața sa anterioară cu un ac Francke, luînd precauția ca adîncimea înțepăturii să fie de circa 3 mm.

Picătura de sînge capilar se tamponează cu hîrtie de filtru din 30 în 30 de secunde, fără a apăsa sau a stoarce, pînă cînd sîngerarea încetează.

Rezultate. 1 minut 30 de secunde — 3 minute.

III. IMUNOLOGIE SANGUINĂ

A. AGLUTINOGENE ERITROCITARE

1. DETERMINAREA ANTIGENILOR O.A.B. (Beth-Vincent)

Reactivi : ser test O.A.B. ; soluție citrat trisodic 3,8% (facultativ).

Tehnică. Pe o lamă de sticlă se pune de la stînga la dreapta cîte o picătură din serurile test O (I), A (II), B (III). Fiecare picătură de ser test se amestecă cu eritrocite de cercetat, recoltate cu sau fără stabilizator, în cantitate de cîte o picătură care trebuie să fie de 10—20 de ori

Scanned with OKEN Scanner

mai mică față de cea de ser test. Se ține la temperatura camerei (+ 18°—20°) timp de 2—5 minute, după care se citește.

Rezultate : lipsă de aglutinare în toate picăturile = grupa O (I) ; aglutinare în picăturile 1 și 3 = grupa A (II) ; aglutinare în picăturile 1 și 2 = grupa B (III) ; aglutinare în toate picăturile = grupa AB (IV).

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 11 900 +) *Natrium criticum tribasicum* chimic pur . . . . . 0,50 g
Ser test O (I) . . . . . 10 ml
Ser test A (II) . . . . . 10 ml
Ser test B (III) . . . . . 10 ml

2. DETERMINAREA FACTORULUI Rh_0 (D) pe lamă cu ser test și eritrocite papainate (van Loghem-Fotino)

Reactivi : ser test anti Rh_0 (D) ; soluție papaină 1%.

Prepararea soluției de papainăă

Papainăă . . . . . 10 g
Tampon fosfat pH 6,2 . . . . . 250 ml

După dizolvare se centrifughează, lichidul supernatant decantîndu-se și adăugîndu-se la :

Clorhidrat de cisteină . . . . . 4,85 g
Tampon fosfat pH 6,2 . . . . . 25 ml

Soluția se completează, în balon cotat, pînă la 1 000 ml și se incubează la +37°, timp de 60 de minute, în baie de apă, după care se filtrează prin filtru Seitz cu placă de azbest K_2.

După filtrare soluția se repartizează în sticluțe tip penicilină, cîte 1—2 ml, se liofilizează sau se congelează la temperatura de —20°. La utilizare, papaina liofilizată se solubilizează în cantitatea de apă distilată corespunzătoare volumului inițial dinaintea liofilizării ; cea congelată se lasă timp de 30 de minute, la temperatura camerei înainte de folosire. Soluția lichidă de papainăă poate fi folosită numai 24 de ore de la preparare (solubilizare, decongelare).

Prepararea tamponului fosfat pH 6,2

Fosfat primar (M/15)
Fosfat monobazic de potasiu (PO_4H_2K) . . 9,078 g
Apă distilată . . . . . 1 000 ml

Fosfat secundar (M/15)
Fosfat bibazic de sodiu (PO_4HNa_2) . . . 11,876 g
Apă distilată . . . . . 1 000 ml

Se amestecă 8 părți fosfat primar cu 2 părți fosfat secundar, rezultînd din acest amestec tampon fosfat. Se verifică pH-ul amestecului care trebuie să fie 6,2.

Tehnică. Se recoltează fără anticoagulant 5 ml sînge de cercetat. Se lasă să coaguleze. În cazul cînd este necesar un examen urgent, se centrifughează imediat după recoltare.

Serul rezultat se decantează și se păstrează într-o eprubetă de hemoliză. În godeurile unei plăci de sticlă, special confecționată pentru examenele serologice, se pun : o picătură de ser test anti Rh_0 (D), o picătură soluție papainăă 1% și o picătură suspensie 5% din sîngele de cercetat. Picăturile se omogenizează cu colțul unei lame de sticlă. Placa

Scanned with OKEN Scanner

cu godeuri se acoperă cu o altă placă de sticlă pentru a se realiza camera umedă. După incubare la +37°, la termostat, timp de 15 minute, se efectuează citirea. În lipsa plăcii de sticlă cu godeuri, determinarea se face într-o cutie Petri, prevăzută în interior cu hîrtie de filtru umezită.

Rezultate. Eritrocitele Rh pozitive apar aglutinate. Aglutinatele vor fi cu atît mai mari, cu cît factorul Rh_0 (D) este mai tare. În cazul cînd eritrocitele cercetate nu au pe mozaicul antigenic acest factor, nu va apărea nici o aglutinare, picăturile păstrînd acelaşi aspect macroscopic ca înainte de introducerea la termostat.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 6 107	*Cysteinum hydrochloricum purum* . .	0,50 g
Cod 9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p.a.	0,06 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	1,5 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	0,40 g
Cod 12 215 +)	*Natrium phosphoricum bibasicum* chimic pur	0,08 g
Cod 13 638	*Papainum purum*	1 g
	Ser anti-Rh 1 ml	10 fiole

3. DETERMINAREA FACTORULUI Rh_0 (D) PE LAMĂ CU SER TEST ŞI ERITROCITE NEPAPAINATE

Reactivi: ser anti-Rh_0 (D); suspensii eritrocite test Rh_0 (D) pozitiv şi Rh_0 (D) negativ.

Tehnică. Se recoltează cu seringa sînge venos fără stabilizator (sau capilar cu pipeta Pasteur, prin puncţionarea pulpei degetului). După coagulare, se recoltează cu o pipetă Pasteur eritrocite din fundul eprubetei, care se depun peste o picătură de ser test anti-Rh_0 (D), aflat pe o lamă de sticlă. Simultan, pe aceeaşi lamă de sticlă, ca martor, în partea stîngă şi dreaptă, se pun din suspensiile pregătite, eritrocite test O (I) Rh_0 (D) pozitiv în stînga lamei şi eritrocite test O (I) Rh (D) negativ în dreapta lamei. După omogenizare cu un colţ de lamă, proba se introduce într-o cutie Petri, avînd în interior o rondelă din hîrtie de filtru umedă, se aplică capacul şi se introduce la termostat, unde se ţine timp de 30—60 de minute.

Rezultat. În cazul sîngelui Rh_0 (D) pozitiv, apar în godeuri aglutinate vizibile cu marginile crenelate, care dacă sînt agitate puternic, dispar sau se accentuează, în funcţie de tăria aglutinogenului sau de titrul anticorpului din serul-test. Eritrocitele martor Rh pozitive vor trebui să dea aglutinare, cele martor Rh negative neprezentînd aglutinare.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Ser anti-Rh 1 ml	10 fiole

Scanned with OKEN Scanner

B. AGLUTININE SERICE (ANTICORPI)

1. DETERMINAREA AGLUTININELOR ANTI-A (α) şi ANTI-B (β) (Simonin)

Reactivi : hematii test A şi B ; soluţie citrat trisodic 3,8% (facultativ).

Tehnică. Pe o lamă de sticlă se depun, cu o pipetă Pasteur, 2 picături de ser rezultat din sîngele de cercetat, recoltat fără stabilizator (în cazuri obişnuite) sau 2 picături de plasmă obţinută prin centrifugarea sîngelui stabilizat cu anticoagulant (citrat trisodic 3,8%, 1 ml soluţie citrat la 4 ml sînge). Cu prima picătură de ser (plasmă) se amestecă o picătură de eritrocite test A, iar cu a doua (cea din dreapta operatorului), o picătură de eritrocite test B. Se omogenizează cu un colţ de lamă şi se citeşte după 2—5 minute.

Rezultate. Apariţia de aglutinate în ambele picături arată prezenţa în ser a aglutininelor anti-A (α) şi anti-B (β), serul aparţinînd grupului sanguin O (I) ; aglutinarea în picătura de ser din stînga lamei arată prezenţa aglutininei anti-A (α) serul aparţinînd grupului sanguin B (III) ; aglutinarea în picătura de ser din dreapta lamei arată prezenţa aglutininei anti-B (β), serul aparţinînd grupului sanguin A (II) ; lipsa de aglutinare în ambele picături de ser arată lipsa de aglutinine şi deci grupul sanguin AB (IV).

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 11 900 +) *Natrium citricum tribasicum* chimic pur . . . . . 0,50 g.

2. DETERMINAREA ANTICORPILOR ANTI-Rh_0 (D) PE LAMĂ CU ERITROCITE PAPAINATE

Reactivi : soluţie papaină 1%; eritrocite test Rh_0 (D) pozitiv şi negativ (suspensie 5%).

Prepararea soluţiilor (vezi pag. 275)

Tehnică. Se recoltează 5 ml sînge venos, fără stabilizator. Se lasă să coaguleze şi se decantează serul.

Pe o lamă cu godeuri se picură cu o pipetă Pasteur din fiecare ser de cercetat 2 picături (cîte o picătură într-un godeu). Se adaugă cîte o picătură de soluţie papaină 1%. În primul godeu se adaugă o picătură de suspensie 5% eritrocite O (I) Rh_0 (D) pozitive, iar în al doilea godeu suspensie 5% eritrocite O (I) Rh_0 (D) negative.

Placa se acoperă cu o altă placă pentru a se realiza camera umedă. Se ţine la termostat la + 37°, timp de 15 minute, după care se citeşte.

Rezultate. În cazul cînd serul de cercetat conţine anticorpi, apar aglutinate în prima picătură (anticorpi anti-D) sau în a doua picătură (anticorpi aparţinînd altor sisteme sanguine).

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 6 107	*Cysteinum hydrochloricum purum* . .	0,50 g
Cod 9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p.a.	0,06 g
Cod 12 215 +)	*Natrium phosphoricum bibasicum* chimic pur	0,08 g
Cod 13 638	*Papainum purum*	1 g

3. TITRAREA ANTICORPILOR ANTI-Rh_0 (D) DIN SERUL SANGUIN

a) *În mediul salin*

Reactivi : ser de cercetat inactivat la 56° timp de 30 de minute ; eritrocite spălate O (I) Rh_0 (D)-pozitive și O (I) Rh_0 (D)-negative în suspensie 2% ; soluție clorurosodică izotonică.

Tehnică. Serul de cercetat se obține prin coagularea a 5 ml sînge recoltat fără stabilizator. Din acest ser, în 10 eprubete de hemoliză se fac diluții crescînde în soluție clorurosodică izotonică, volumul final fiind de 0,2 ml. În toate eprubetele se adaugă cu o pipetă gradată 0,2 ml suspensie 2% eritrocite O (I) Rh_0 (D)-pozitive. Se ține la termostat 2 ore la temperatura de +37°, după care se citește.

Rezultate. Dacă apare aglutinare, serul conține anaticorpi anti-Rh_0 (D) complet, diluția cea mai mare a serului cercetat în care a apărut ultima aglutinare reprezentînd titrul salin al serului de cercetat. Aceeași operație efectuată cu eritrocite O (I) Rh_0 (D)-negative suspensie 2% nu trebuie să dea reacție pozitivă.

O reacție negativă în ambele cazuri nu exclude prezența anticorpilor iregulari.

b) *În mediul albuminos*

Reactivi : ser de cercetat inactivat la 56°, timp de 30 de minute ; eritrocite test O (I) Rh_0 (D)-pozitive și O (I) Rh_0 (D)-negative suspensie 2% în ser uman AB (IV). Serul uman va fi lipsit de anticorpii iregulari.

Tehnică. Se recoltează sînge de cercetat fără anticoagulant. Serul rezultat după coagulare se decantează și din el se fac diluții în ser AB (IV) în două serii de eprubete de hemoliză pînă la volumul final de 0,2 ml. Se adaugă în fiecare eprubetă a primei serii cîte 0,2 ml suspensie 2% în ser AB (IV) de eritrocite O (I) Rh_0 (D)-pozitive ; în a doua serie de eprubete se adaugă suspensie 2% eritrocite O (I) Rh_0 (D)-negative. Probele se introduc la termostat la +37°, timp de 2 ore.

Rezultate. În paralel cu o probă martor care constă din 0,4 ml suspensie 2% eritrocite O (I) Rh_0 (D)-pozitive în ser AB (IV) în eprubetă de hemoliză, servind ca martor negativ, se apreciază prezența sau absența anticorpilor anti-Rh în serul de cercetat astfel :

Dacă serul dă aglutinare în mediu albuminos și nu dă în mediu salin, conține numai anticorpi anti-Rh_0 (D), incompleți.

Dacă serul dă aglutinare în mediu salin și în mediu albuminos sînt următoarele situații :

Scanned with OKEN Scanner

— Titrul salin mai mic decît titrul albuminos = serul conține anticorpi anti-Rh_0 (D) complețI și incompleți ;

— Titrul salin identic cu cel albuminos = serul conține numai anticorpi anti-Rh_0 (D) complețI sau serul conține anticorpi complețI și incompleți, însă anticorpii complețI au un titru mai ridicat decît cei incompleți. În acest caz, serul de cercetat se încălzește la + 63°, 30 de minute, în care timp anticorpii complețI se distrug. Făcîndu-se din nou titrarea, în cazul cînd au fost numai anticorpi complețI, titrul scade la 0 ; în caz contrar, se poate stabili titrul anticorpilor incompleți ;

— Titrul este egal cu 0. În acest caz nu se exclude prezența criptaglutininelor care se pot pune în evidență numai prin tehnici speciale (papainare, test antiglobulinic).

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 11 860 +) *Natrium chlorat* chimic pur . . . . 4 g

4. DETERMINAREA AUTOAGLUTINĂRII PRIN ANTICORPI INCOMPLEȚI ÎN MEDIU ALBUMINOS

Reactivi : mediu albuminos ; ser uman normal ; soluție citrat trisodic 3,8% ; soluție clorurosodică izotonică.

Prepararea mediului albuminos

Ser (plasmă) normală AB (IV)	4 volume
Albumină bovină 20% în soluție clorurosodică izotonică . . .	1 volum

Tehnică. Se recoltează sînge de cercetat pe soluție anticoagulantă, după tehnicile descrise și se trece în 2 eprubete. Una dintre eprubete se pune la termostat la + 37° ; cealaltă la frigider la +4°. Se țin în aceste condiții, în vederea fixării pe eritrocite a anticorpilor incompleți calzi și reci, timp de 2 ore, după care eritrocitele se spală de 3 ori cu soluție clorurosodică izotonică. Se fac suspensii 2% în mediu albuminos. Pentru martor se folosesc eritrocite normale spălate după aceeași tehnică și în suspensii 2% în mediu albuminos.

Pentru determinarea autoaglutinării cu anticorpi incompleți calzi, într-o eprubetă de hemoliză se pun 0,5 ml suspensie 2% din sîngele de cercetat, iar în a doua 0,5 ml suspensie 2% din sîngele martor din grupa O (I).

În ambele eprubete se pun 0,5 ml mediu albuminos.

După incubare la termostat, la + 37° timp de 2 ore se face citirea.

Determinarea autocoagulării cu anticorpi incompleți reci respectă aceeași tehnică, cu deosebirea că eritrocitele de cercetat se resuspendă în serul sanguin propriu bolnavului, iar eritrocitele normale O (I) se resuspendă în ser uman normal AB (IV). După 2 ore de regim termic de + 4°, la frigider, se face citirea.

Rezultate. Eritrocitele sensibilizate prin fixarea anticorpilor incompleți se autoaglutinează dacă sînt resuspendate într-un mediu albuminos și incubate la temperatura optimă, corespunzătoare tipului de anticorpi (calzi sau reci).

Apariția aglutinatelor în probele cercetate demonstrează prezența în ser a anticorpilor incompleți. Martorul nu trebuie să prezinte aglutinate.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 2 319	*Albumen bovis cryst. purum*	0,40 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	5 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	0,50 g

5. TITRAREA ANTICORPILOR INCOMPLEȚI ÎN MEDIU ALBUMINOS

Reactivi : mediu albuminos 20% ; ser uman normal izogrup.

Tehnică. Se recoltează sînge de cercetat fără anticoagulant, după tehnicile descrise. Se decantează serul în vederea titrării anticorpilor. Acesta se diluează în ser uman normal izogrup în diluții crescînde de la 1/1 la 1/32, astfel :

În 7 eprubete de hemoliză se pun cîte 4 picături ser uman normal izogrup. În prima și a doua eprubetă se adaugă cîte 4 picături ser de bolnav și se fac diluțiile de la eprubeta a doua, prin treceri succesive pînă la eprubeta a șasea.

Eritrocitele provenite de la bolnav sînt resuspendate în ser uman normal sau albumină bovină în procent de 1%. Se face o aceeași suspensie cu eritrocite O (I). În primele șase eprubete se adaugă cîte 4 picături suspensie eritrocite de bolnav, iar în a șaptea, suspensie eritrocite normale. După două ore de incubație la termostat la 37° se citesc probele.

Rezultate. În cazul prezenței anticorpilor incompleți apare aglutinare în primele 6 eprubete (examenul trebuie făcut și microscopic). În a 7-a eprubetă (martor) nu trebuie să apară aglutinate. Titrul se apreciază după numărul eprubetei în care apare ultima aglutinare.

Reactivi necesari (pentru 100 de titrări)

Cod 2 319	*Albumen bovis cryst. purum*	0,40 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	5 g

6. TESTUL ANTIGLOBULINIC (Coombs-Mourant-Race)

Reactivi : ser antiglobulinic adsorbit ; ser de cercetat, inactivat, timp de 30 de minute, la 56° ; eritrocite O (I) RH_0 + și Rh_0 spălate ; ser normal inactivat, fără aglutinine și anticorpi.

Prepararea *serului antiglobulinic adsorbit.* Serul antiglobulinic este un ser imun de animal (iepure, capră), obținut prin imunizarea animalelor cu ser uman sau globuline serice umane. Pentru utilizare, acest ser trebuie diluat sau adsorbit. Prin diluție, se merge pînă la titrul de 1/80. care nu mai dă aglutinări cu eritrocitele umane, serul păstrîndu-și puterea antiglobulinică ; sau prin adsorbție, cu eritrocite umane O, A, B, folosind tehnica obișnuită, pînă cînd se obține un ser fără putere aglutinantă față de eritrocitele umane, — se obține serul antiglobulinic care se utilizează pentru determinări pe lamă.

Scanned with OKEN Scanner

a) *Testul antiglobulinic direct*

Reactivi : ser antiglobulinic adsorbit ; soluție clorurosodică izotonică.

Tehnică. În două eprubete de hemoliză se pun cîte 0,5 ml ser (în prima, de cercetat ; în a doua, normal). În ambele eprubete se adaugă 0,25 ml suspensie 50% eritrocite O (I) Rh_0 pozitive.

Simultan se realizează aceleași amestecuri cu eritrocite O (I) Rh_o-negative.

Ambele serii se incubează la termostat la + 37°C, timp de 45 de minute.

După incubație fiecare serie de eritrocite se spală abundent în ser fiziologic, după care sedimentul eritrocitar rămas în fundul eprubetei după ultima spălare se amestecă pe o lamă cu o picătură mare de ser antiglobulinic adsorbit.

Rezultate. Se obține, după 2—3 minute, aglutinarea eritrocitelor provenite din prima eprubetă, eritrocitele din eprubeta a doua neaglutinîndu-se. Acest fapt demonstrează că eritrocitele au fixat un anticorp, deci serul de cercetat prezintă anticorpi iregulari.

Dacă nu se obține aglutinare în nici o probă, serul de cercetat nu conține anticorpi iregulari.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 11 860 +) *Natrium chloratum* chimic pur . . . 8 g
Ser antiglobulinic . . . . . 50 ml

b) *Testul antiglobulinic indirect*

Reactivi : soluție clorurosodică izotonică ; ser antiglobulinic adsorbit.

Tehnică. Se recoltează pe stabilizator (citrat trisodic 3,8% sau oxalat de potasiu cristalizat) sau fără stabilizator. Se separă hematiile care se spală după tehnica obișnuită cu soluție clorurosodică izotonică de 3 ori. Pe o lamă de sticlă se amestecă o picătură din eritrocitele de cercetat cu o picătură mare de ser antiglobulinic. Simultan se repetă aceeași reacție cu eritrocite normale (martor). Se efectuează citirea, începînd de la 10 secunde pînă la 3 minute.

Rezultate. Reacția pozitivă pe prima lamă arată prezența anticorpilor ; o reacție negativă arată absența anticorpilor, pe suprafața eritrocitelor. Reacția trebuie să fie negativă cu eritrocite normale.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 11 860 +) *Natrium chloratum* chimic pur . . . 8 g
Ser antiglobulinic . . . . . 50 ml

7. DETERMINAREA CALITATIVĂ A ANTICORPILOR ANTI-Rh_0 (D) DIN SER (LAPTE)

Reactivi : soluție clorurosodică izotonică 8,5 ‰ ; papaină soluție 1%.

Tehnică. În 2 eprubete de hemoliză se repartizează cîte 0,2 ml ser (lapte) de cercetat diluat 1/2 în soluție clorurosodică izotonică (2 picături

Scanned with OKEN Scanner

ser, 2 picături soluție salină). Se adaugă cu pipeta Pasteur în fiecare eprubetă cîte o picătură 2% hematii Rh_o-negativ $\left(\frac{c\ d\ e}{c\ d\ e}\right)$ și Rh_o pozitiv $\left(\frac{C\ D\ e}{c\ D\ E}\right)$ papainate cu soluție papaină 1% după metoda Van Loghem (vezi pag. 275). Probele se țin la termostat la +37° timp de 60 de minute.

Rezultate. Dacă apare aglutinare într-una din eprubete, în ser (lapte) există anticorpi. Aceștia se pot titra cu hematii papainate.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 6 107	*Cysteinum hydrochloricum purum* . .	0,50 g
Cod 9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	0,06 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	0,85 g
Cod 12 215 +)	*Natrium phosphoricum bibasicum* chimic pur	0,08 g
Cod 13 638	*Papainum purum*	1 g

8. TITRAREA ANTICORPILOR ANTI-Rh_0 (D) DIN SER (LAPTE)

Reactivi : soluție clorurosodică izotonică ; papaină soluție 1%.

Tehnică. Serul (laptele) de cercetat se diluează în diluție serială cu soluție clorurosodică izotonică 8,5 ‰, în volum de 0,2 ml (4 picături), în eprubete de hemoliză. Peste diluții se adaugă cîte o picătură din suspensie 2% eritrocite suspendate în mediu salin, papainate cu soluție papaină 1%, după metoda Van Loghem (vezi pag. 275).

Probele se țin 60 de minute la termostat la +37° după care se efectuează citirea reacției.

Rezultate. Titrul anticorpilor anti-Rh_o (D) în ser (lapte) se stabilește după ultima diluție în care există aglutinare.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 6 107	*Cysteinum hydrochloricum purum* . .	
Cod 9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	0,50 g 0,06 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	0,86 g
Cod 12 215 +)	*Natrium phosphoricum bibasicum* chimic pur	0,08 g
Cod 13 638	*Papainum purum*	1 g

9. DETERMINAREA ANTICORPILOR ANTILEUCOCITARI (Dausset)

Reactivi : soluție 3,5% polivinil pirolidon (dextran) ; soluție acid acetic 1%.

Tehnică. Se recoltează 20 ml sînge venos prin metodele obișnuite, defibrinîndu-se cu ajutorul perlelor de sticlă. Se adaugă 5 ml polivinil pirolidon 3,5% și se lasă să sedimenteze timp de 30 de minute, la termostat (+37°), în tub înclinat la 45°. Serul supernatant conține 3 000—6 000 elemente albe pe mililitru.

Scanned with OKEN Scanner

Într-un tub de hemoliză se adaugă la 0,1 ml ser de cercetat inactivat timp de 30 de minute la 56°, 0,05 ml suspensie leucocite și se lasă apoi la incubat la +37° timp de o oră după care se adaugă 0,1 ml acid acetic 1% și se face citirea cu obiectivul 3, într-o cameră de numărat, introducerea lichidului făcîndu-se după tehnicile arătate.

Rezultate. În caz de reacție pozitivă microscopic apar aglutinatele leucocitare sub formă de grămezi etc., iar în caz contrar, leucocitele apar dispersate. Se va acorda o deosebită atenție fenomenului de zonă. Se va face deosebirea între leukergie (fenomen celular — tendința ca leucocitele să se grupeze) și leucoaglutinare (fenomen seric — aglutinare de către serul sanguin a leucocitelor întîlnite).

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 6 333	*Dextranum purum*	500 ml
Cod 14 277	*Polyvynyl pyrolidon purum*	500 ml
	Acid acetic soluție 1%	10 ml

C. COMPATIBILITATEA SEROLOGICĂ ÎN TRANSFUZII

1. PROBA DE COMPATIBILITATE DIRECTĂ (majoră) (Jeanbrau)

Reactivi : soluție citrat trisodic 3,8% (facultativ).

Tehnică. Serul de cercetat se obține prin centrifugarea imediată a sîngelui prelevat de la bolnav sau prin obținerea plasmei din sîngele stabilizat cu citrat trisodic 3,8% provenit de la acest bolnav.

Pe o lamă de sticlă se pune în contact o picătură de ser de la bolnav cu o picătură de sînge (circa a 10-a—a 20-a parte din picătura de ser) provenită din flaconul care urmează a se transfuza. După omogenizare, lama se incubează la + 37° la termostat (în cameră umedă) timp de 30 de minute, după care se examinează.

Rezultate. Apariția aglutinării pe lamă arată prezența în ser (plasmă) a anticorpilor antieritrocitari, fapt care face incompatibilă transfuzia de sînge.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	4 g

2. PROBA DE COMPATIBILITATE INVERSĂ (minoră)

Reactivi : soluție citrat trisodic 3,8% (facultativ).

Tehnică. Se procedează ca la proba de compatibilitate majoră, cu deosebirea că serul de cercetat este provenit din flacon, iar eritrocitele de la bolnav.

Rezultate. Completează rezultatele obținute prin proba directă majoră și stabilesc și mai precis compatibilitatea serologică.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 11 900 +) *Natrium citricum tribasicum* chimic pur 4 g

IV. TEHNICA SILICONĂRII MATERIALULUI DE LABORATOR

(I. Popa)

1. Siliconarea sticlăriei de laborator

a) *Curăţirea*

Sticlăria se curăţă bine cu apă şi săpun, se spală cu apă de robinet şi apă distilată, se ţine apoi 24 de ore într-o soluţie de carbonat sau bicarbonat de sodiu 4%, se clătește bine cu apă de la robinet şi cu apă distilată şi se introduce într-o soluţie de hidroxid de sodiu 40%, în care se ţine 24 de ore. Se scoate, se clătește bine cu apă de la robinet şi cu apă distilată şi se introduce în amestec sulfocromic. După 24 de ore, se scoate, se clătește bine cu apă de la robinet şi cu apă distilată şi se introduce într-un pupinel pentru uscare, la temperatura de 150°—200°. După uscare, se răcește la temperatura camerei şi este gata pentru a fi siliconată.

b) *Ungerea cu substanţă siliconată şi uscarea*

În general, pentru fiecare obiect de siliconat, trebuie găsită modalitatea de a i se unge suprafaţa care trebuie siliconată. Eprubetele, paharele, cilindrii, pipetele, biuretele etc., la care trebuie siliconat interiorul lor, se umplu cu substanţa siliconată şi se golesc imediat.

Pistonul seringii de sticlă (tip Luer) se siliconează prin scufundarea într-un vas cu substanţă siliconată. Este scos imediat şi susţinut în poziţie verticală, pe un suport de sticlă, pentru zvîntare. Corpul seringii se siliconează, ţinîndu-l vertical, umplîndu-l cu substanţa siliconată şi golindu-l apoi imediat.

Lamelele de sticlă se scufundă în substanţa siliconată, din care se scot imediat afară şi se aşază vertical, în suporţi de sticlă, pentru zvîntare.

În general, timp de 24 de ore după ungere, sticlăria se zvîntă bine şi se usucă suficient. Nu trebuie să rămînă pe obiectele siliconate, substanţă siliconată în exces, în anumite puncte sau pe la margini. De aceea, imediat după udare, sticlăria se aşază în poziţia cea mai potrivită (în general poziţia verticală), pentru scurgerea substanţei siliconate în exces. Sticlăria rămîne în această poziţie atît în timpul zvîntării cît şi în faza următoare de coacere.

c) *Coacerea*

După uscare, sticlăria se introduce în pupinel. Aci se coace la o anumită temperatură şi pe o anumită durată de timp, corespunzătoare substanţei siliconate utilizate.

În tabloul care urmează se arată temperaturile şi duratele de coacere, în diferitele cazuri de siliconări :

Scanned with OKEN Scanner

Substanța siliconantă	Temperatura la pupinel	Timp de coacere (în ore)	Obs.
1. „Emulsion de Silicon M 1167“ (ca atare sau diferite diluții a-poase)	240—255°	3	
2. „Silicon Emulsion Bayer“ (ca atare sau diferite diluții apoase)	275—300°	3	
3. „Siliconöl AK“ (ca atare sau diferite diluții, în toluen sau cloroform)	240—255°	3	
4. „Siliconöl AK 350“ (ca atare sau diferite diluții, în toluen sau cloroform)	240—255°	4	
5. „Imprägniermittel WS 60“ (ca atare sau diferite diluții, în toluen sau cloroform)	240—255°	3	
6. „Rhodprsil-Produit 240“ (ca atare sau diferite diluții în cloroform)	140—160°	1/2—3/4	
7. „Silicon Repelcote Water Repellent“ (ca atare sau diferite diluții în cloroform)	—	—	Nu este necesară coacerea la pupinel, pelicula de silicon fiind formată prin simplă hidroliză, la temperatura camerei.

2. SILIȚONAREA ACELOR DE PUNCȚIE VENOASĂ

Pentru siliconarea acelor de venepuncție, se pot utiliza numai uleiuri de silicon, care nu au acțiune corosivă.

Între siliconii utilizabili pentru siliconarea acelor de venepuncție sînt : „Imprägniermittel WS 60“, „Siliconöl AK 350“ și „Siliconöl AK“, produse ale firmei „Wacker Chemie“, München.

„Silicon Repelcote Water Repellent“ produs de firma „Hopkin and Williams“ (Anglia) sau „Rhodorsil produit 240“, produs de firma „Rhône Poulenc“ (Franța), nu se pot utiliza, fiind corosivi.

3. SILICONAREA CU „IMPRÄGNIERMITTEL WS 60“

Se folosesc numai ace noi. Se suflă acele cu o seringă, pentru eliminarea totală a prafului. Se trece substanța siliconantă prin lumenul acului, împingînd-o dintr-o seringă. Acele astfel udate cu substanța siliconantă se suspendă vertical, ca să se scurgă excesul de substanță. Se țin 24 de ore, ca să se zvînte, într-un spațiu ferit de praf, vapori sau gaze.

Scanned with OKEN Scanner

Fiecare ac se șterge apoi cu triunghiuri mici de hîrtie de filtru, introducîndu-se cîte un colț în vîrful lui, ca să se elimine picătura reziduală de substanță siliconantă.

Ștergerea durează pînă cînd colțul de hîrtie de filtru, introdus în vîrful acului, nu se mai pătează. Apoi acele se introduc tot în poziție verticală, în pupinel, unde se coc timp de 3 ore, la temperatura de 240—270°. După coacere, pupinelul se lasă închis să se răcească treptat. Apoi, acele se scot și se controlează.

Sînt considerate bine siliconate acele prin al căror lumen se poate privi, fiind neînfundate.

Dacă operațiile de udare, zvîntare și ștergerea acelor în vîrf sînt atent făcute, din 10 ace, după coacerea în pupinel, se înfundă cel mult două.

Pînă la folosirea lor, acele siliconate se păstrează în eprubete bine închise.

Înainte de întrebuințare, fiecare ac pus într-o eprubetă se sterilizează în căldură uscată la pupinel, timp de 30 de minute, la temperatura de 180°—200°.

Reactivi necesari (pentru o suprafață de siliconare de 100 cm²)

Cod 5 563 +)	*Cloroformium* pt. a.	10 ml
Cod 16 138	*Toluolum* p. a.	10 ml
	Silicon emulsie	5 ml
	Silicon brut substanță	0,1 g

CAPITOLUL al V-lea

EXAMENE PARAZITOLOGICE ŞI MICOLOGICE

Scanned with OKEN Scanner

EXAMENE PARAZITOLOGICE ŞI MICOLOGICE

I. PARAZIŢI MONOCELULARI

Pag.

1. *Entamoeba coli. Entamoeba dysenteriae* 291
   a) Căutarea formelor vegetative 291
      Examenul direct 291
      Examenul pe frotiu colorat 291
   b) Căutarea formelor chistice 292
      Coloraţia cu soluţie concentrată de iod (Lugol forte) . . . 292
   c) Examenul preparatelor fixate şi colorate 292
      Metoda cu hematoxilină ferică 292
   d) Examenul coprologic de îmbogăţire (metoda Telemann) . . . 294
2. *Trichomonas, Giardia, Leishmania* 295

   Trichomonas
   a) Examenul direct 295
   b) Coloraţia cu verde de metil-pironină 295
   c) Coloraţia cu soluţia Giemsa 295

   Giardia (Lamblia)
   a) Examen în lichidul duodenal 296
      — Examen direct 296
      — Examenul frotiului colorat 296
   b) Examen coprologic 296
      — Examen direct 296
      — Examenul frotiului colorat cu sol. Lugol 297

   Leishmania
   a) Examenul bioptic 297
   b) Reacţia de precipitare cu apă distilată 298
   c) Frotiuri din leziunile cutanate 298
3. *Hematozoarul palustru* 298
   a) Examenul sîngelui proaspăt 298
   b) Examenul sîngelui în frotiu subţire 298
   c) Examenul sîngelui în picătură groasă 299

Scanned with OKEN Scanner

II. PARAZIȚI AI TRACTUSULUI DIGESTIV

Pag.

1. *Trematode — Distomum hepaticum* (Fasciola hepatica) 299
   Examenul direct 299
2. *Cestode. Taenia saginata, Taenia solium, Taenia echinococcus, Botriocephalus latus* 300
   Taenia saginata 300
   Examenul direct 300
   Taenia solium 301
   Taenia echinococcus (Echinococcus granulosus) 301
   Botriocephalus latus (Dyphyllobothrium latum) 301
3. *Nematode — Ascaris lumbricoides, Oxiurus vermicularis, Trichocephalus, Trichinella spiralis, Ankylostoma duodenalae* . . . 302
   Ascaris lumbricoides
   Examen direct 302
   Oxiurus vermicularis
   Examen direct 302
   Trichocephalus
   Examen direct 302
   Trichinella spiralis
   a) Examen direct 303
   b) Identificarea larvelor 303
   c) Cercetarea larvelor închistate 303
   Ankylostoma duodenale
   Examen direct 304

III. PARAZIȚI AI PĂRULUI ȘI PIELII CAPULUI

1. *Ciuperci dermofite* 304
   Trichophyton
   a) Examenul direct 304
   b) Culturi 305
   Microsporum
   Achorion
   Actinomyces
   a) Examenul direct 307
   b) Examenul preparatelor colorate 307
   c) Examenul micozelor profunde 307
   Candida albicans
   a) Examenul direct 308
   b) Medii de cultură 308

I. PARAZIȚI MONOCELULARI

1. ENTAMOEBA COLI. ENTAMOEBA DYSENTERIAE

a) *Căutarea formelor vegetative*

Examenul direct

Tehnică. *Recoltarea materiilor fecale* se face luînd o serie de precauții : materii fecale absolut proaspete, neamestecate cu urină sau alte lichide ; scaunul se adună într-un vas curat, încălzit și uscat ; examinarea va fi făcută în primele 30—40 de minute de la emisiune sau în maximum 2—3 ore, scaunul fiind ținut pînă atunci într-un loc cald (eventual la termostat) ; examenul se va face, pe cît posibil, la o temperatură apropiată de 37°, folosind lame și lamele încălzite și o sursă de căldură lîngă microscop.

Se recoltează cu o ansă mici particule din diferite locuri din scaun (se vor prefera mucozitățile sanguinolente, cînd acestea există), se pun pe o lamă și se amestecă cu o picătură de ser fiziologic (cînd scaunul este tare), apoi se întinde cît mai subțire cu ajutorul altei lame. Se acoperă preparatul cu o lamelă și se examinează la microscop.

Rezultate. Identificarea parazitului se face pe baza caracterelor sale morfologice. Organismul este unicelular, fără membrană, prezentînd o protoplasmă dispusă în două straturi : un strat extern — ectoplasma — refringentă și mai bine diferențiată la *Entamoeba dysenteriae* și un strat intern — endoplasma — cu vacuole ; acestea conțin, la *Entamoeba dysenteriae,* numeroase hematii în diverse stadii de distrucție. Nucleul este mic, situat paracentral la *Entamoeba coli* și periferic la *Entamoeba dysenteriae.* Identificarea se mai face și datorită mișcărilor pseudopodelor, care sînt lente la *Entamoeba coli* și foarte vii la *Entamoeba dysenteriae.*

Examenul pe frotiu colorat

Reactivi : soluție 2% eozină în soluție clorurosodică izotonică.

Tehnică. Se recoltează cu o ansă o particulă din scaun, se pune pe o lamă, se adaugă o picătură de eozină 2%, se amestecă bine, se întinde cît mai subțire cu o altă lamă și se acoperă cu o lamelă.

Rezultate. Această metodă ne dă date asupra viabilităţii parazitului. De observat că formele vegetative nu se colorează, ele apărînd ca nişte mici pete albe în cîmpul roşu.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 11 860 +) *Natrium chloratum* chimic pur . . . 0,05 g
Cod 19 418 *Eosin aqua et spiritus solubile* . . . 0,10 g

b) *Căutarea formelor chistice*

Coloraţia cu soluţie concentrată de iod (Lugol forte)

Reactivi : soluţie de iod concentrată.

Prepararea soluţiei. Într-un pahar Berzelius se pun o parte iod metaloid şi două părţi iodură de potasiu, aşezîndu-se deasupra apă distilată, atît cît să acopere masa substanţelor. Se agită pînă la dizolvare şi se completează apoi cu apă distilată pînă la 40 de părţi.

Tehnică. O particulă de fecale se amestecă pe o lamă cu 2 picături de soluţie Lugol forte, se întinde cu ajutorul altei lame şi se acoperă cu o lamelă. Se lasă deoparte aproximativ 5 minute, după care se face examinarea la microscop.

Rezultate. Iodul colorînd nucleii, se poate face astfel diferenţierea între chisturile de *Entamoeba coli* care au o membrană groasă cu dublu contur şi cîte 8 nuclei (mai rar 16 sau 32) şi chisturile de *Entamoeba dysenteriae* care au membrana subţire, cu contur simplu şi cîte 4 nuclei. La chisturile tinere, nucleii sînt în număr de 1—2—4 pentru ambele specii.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 9 373 *Iod metallicum purum* . . . . . 0,50 g
Cod 9 695 b *Kalium iodatum* p. a. . . . . 1 g

c) *Examenul preparatelor fixate şi colorate*

Metoda cu hematoxilină ferică (Heidenheim)

Reactivi : lichidul Schaudinn ; alcool iodat ; soluţie apoasă 4% şi 2,5% alaun de fier şi amoniu ; xilen ; xilen fenicat ; soluţie de hematoxilină 1%.

Prepararea soluţiilor

Lichidul Schaudinn. 1 volum de alcool etilic 96° se amestecă cu 2 volume soluţie apoasă saturată de sublimat (7% sublimat în apă distilată călduţă, se lasă să se răcească şi se filtrează a doua zi). La acest amestec se adaugă acid acetic concentrat, în cantitate de 3—5% din volumul total. Este bine ca amestecul să se folosească încălzit pînă la 40—50°.

Alcool iodat. Alcool etilic de 70° la care se adaugă tinctură de iod pînă la culoarea vişinie.

Soluţie apoasă 4% şi 2,5% alaun de fier şi amoniu. Se dizolvă alaunul în apă distilată ; cristalele de alaun trebuie să aibă o culoare violetă-deschisă (cristalele galbene nu sînt bune de utilizat).

Xilen fenicat. O parte acid fenic cristalizat şi 3 părţi xilen.

Scanned with OKEN Scanner

Soluție de hematoxilină 1%. 1 g hematoxilină cristalizată se dizolvă în 10 ml alcool etilic 95° și apoi se adaugă apă distilată pînă la 100 ml. Soluția trebuie să matureze și de aceea se lasă timp de 3—4 săptămîni într-o sticlă albă, la lumină și într-o încăpere călduroasă. Înainte de întrebuințare, cantitatea necesară pentru colorație se diluează pe jumătate cu apă distilată. După folosire, colorantul poate fi filtrat și reîntrebuințat.

Tehnica. *Prepararea frotiurilor și fixarea.* Se alege o particulă din materiile fecale (cu mucus, dacă există) și se pune pe marginea unei lame de microscop. Cu această margine se întinde rapid un frotiu pe o altă lamă și imediat după aceea, cît timp frotiul este umed, se acoperă cu lichidul Schaudinn. Pentru fiecare examen este de dorit să se facă 6—8—10 preparate.

După 20—30 de minute, lamele se trec cu o pensă într-un borcănaș cu alcool 70°, unde se țin 5—10 minute. Pentru îndepărtarea totală a sublimatului, preparatul se prinde cu o pensă și se cufundă în alcool iodat timp de 5—10 minute. Se trece apoi preparatul în alcool de 70° timp de 5 minute, pentru a îndepărta iodul ; lamele se vor apuca mereu cu pensa. Astfel se termină fixarea. Dacă colorația nu se poate face imediat, lamele se pot ține în alcool 1—2 zile.

Mordansare și colorație. Preparatul se scoate din alcool și se spală bine cu apă distilată, timp de 3—5 minute. Pentru mordansare, preparatul se ține 6—12 ore într-un borcănaș cu soluție 4% de alaun de fier și amoniu. Se spală rapid cu apă distilată. Se pune apoi într-o cutie Petri cu soluție de hematoxilină și se ține la temperatura camerei timp de 12—24 de ore sau 40 de minute la 50°. Preparatul se spală apoi cu apă distilată.

Diferențierea. În hematoxilină, preparatul capătă o culoare neagră, omogenă. După aceasta este nevoie să se îndepărteze excesul de colorant pentru a se pune în evidență structura protozoarelor. Eliminarea excesului se face cu o soluție 2,5% alaun de fier și amoniu, sub controlul microscopului, la început cu un obiectiv slab și apoi cu unul puternic (de preferință cu imersie). Preparatul spălat cu apă se șterge ușor cu o cîrpă pe partea opusă frotiului (se șterge excesul de colorant) și se pune pe o punte făcută din două baghete de sticlă. Soluția de alaun se introduce cu o pipetă dedesubtul lamelei. Pentru a urmări diferențierea, se caută o amebă, un chist sau un leucocit. Diferențierea se oprește în momentul în care pe fondul cenușiu al protoplasmei apar în mod evident structurile cromatinice negre ale nucleilor și corpii cromatoizi de culoare neagră sau eritrocite.

Cînd nu reușim să găsim chistul sau vreun alt element care să ne convingă, putem face diferențierea în raport cu fondul general al colorației. Pe măsura decolorării, fondul se modifică ; diferențierea se oprește cînd apare un fond cenușiu-violaceu (nu cafeniu sau galben care indică o decolorare exagerată a preparatului).

După diferențiere, preparatul se spală cu apă de robinet timp de 40—60 de minute.

Deshidratarea, clarificarea și montarea cu balsam de Canada. Preparatul se scoate din apă. Ținîndu-l cu muchia pe o fîșie de filtru, se scurge apa pe această hîrtie. În continuare, preparatul se cufundă mai întîi în

Scanned with OKEN Scanner

alcool de 70°, apoi în alcool de 96° și din nou în alcool de 96° (în alt borcănaș). În fiecare baie lama se ține cam 2 minute. În acest fel preparatul se deshidratează. Apoi preparatul se trece în xilen fenicat unde se ține 2 minute și apoi în xilen unde se ține 1 minut. Ca și în alcoolul de 96° și în xilen, lama se va cufunda de cîteva ori pînă ce preparatul se clarifică. Clarificarea suficientă a acestuia se controlează prin transparența lui pe un fond negru. Dacă pe preparat au rămas pete albe sau mate, se varsă xilenul sau xilenul fenicat și se cufundă din nou preparatul, pentru scurt timp, în alcool de 96°, reluînd apoi clarificarea.

Preparatul se montează apoi cu balsam de Canada : cu o baghetă de sticlă se pune pe o lamelă mică o picătură de balsam, pe care se pune cu atenție preparatul, cu fața pe care este întins frotiul în jos. Se va evita formarea de vezicule de aer ; dacă însă acestea au apărut, le vom elimina apăsînd încet cu degetul lamela.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	15 ml
Cod	581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a.	200 g
Cod	2 333 +)	*Alcohol aethylicus 90° purificat* . . .	1 500 ml
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	150 ml
Cod	2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* p. a. . .	1 500 ml
Cod	3 733	*Balsamum canadense neutrale* p. a. . .	25 ml
Cod	7 620 +)	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* pt. a.	100 g
Cod	8 715 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst.* pur	15 g
Cod	16 974	*Xylolum (-thyophen) purum*	1 300 ml
Cod	19 745	*Hematoxylinum purum*	15 g

d) *Examenul coprologic de îmbogățire*

Metoda Telemann

Reactivi : eter ; acid clorhidric diluat (25% în apă distilată).

Tehnică. Într-o eprubetă se toarnă 2 ml eter și 7 ml acid clorhidric diluat ; cu o baghetă de sticlă se introduce în eprubeță o particulă de materii fecale (de mărimea unei alune), se agită bine conținutul eprubetei și se trece rapid printr-o sită într-un mojar de porțelan sau Berzelius. Filtratul obținut se pune imediat la centrifugă și se centrifughează timp de 1 minut.

În eprubetă se vor forma 3 straturi : un strat superior, constituit din eter și grăsimile dizolvate în el ; un strat mijlociu, format din acid clorhidric și substanțele dizolvate în acesta și un strat inferior, constituit din elementele insolubile ale scaunului. În acest din urmă strat se vor găsi și chisturile. Cele două straturi superioare se varsă complet prin răsturnarea eprubetei. Continuînd să ținem eprubeta înclinată în jos, recoltăm depozitul de pe fund cu o pipetă, făcînd 1—2 preparate.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.* D=1,19, p. a.	140 ml
Cod	1 774	*Aether aethylicus anh.* p. a.	200 ml

2. TRICHOMONAS, GIARDIA, LEISHMANIA

TRICHOMONAS

a) *Examenul direct*

Tehnică. Recoltarea materialului se face diferit pentru cele trei specii de *Trichomonas.*

Pentru *Trichomonas bucalis,* recoltarea se face din tartrul dentar, carii, marginea gingiei sau criptele amigdaliene.

Pentru *Trichomonas intestinalis,* se recoltează cu o ansă un mic fragment din scaun şi se întinde subţire pe o lamă.

Pentru *Trichomonas vaginalis,* recoltarea se face cu ansa din fundul de sac vaginal posterior.

Examinarea la microscop se face imediat după recoltare.

Rezultate. Parazitul apare sub forma unei singure celule alungite, ovale sau chiar rotunde *(Trichomonas vaginalis)* prevăzută cu 3—5 flageli. Citoplasma apare ca o masă unică, cu o structură fină. Nucleul este în general voluminos şi situat, de obicei, la una din extremităţile corpului.

b) *Coloraţia cu verde de methyl-pironină*

Reactivi : soluţie alcoolică de verde de methyl-pironină fenicată.

Prepararea soluţiei. Verde de metil cristalizat, gălbui, 0,15 g, pironină 0,25 g, alcool etilic 96° — 2,5 ml, glicerină 20 ml, soluţie de acid fenic 2% q.s. 100 ml.

Tehnică. Se întinde frotiul pe o lamă, se fixează în alcool absolut şi apoi se colorează cu amestecul de mai sus, timp de 25—35 de minute. Se spală şi se usucă.

Rezultate. Citoplasma tricomonei apare colorată în roz închis, iar nucleul violet-închis, spre deosebire de leucocit a cărui citoplasmă se colorează în roz palid, iar nucleul în albăstrui-verde.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a.	6 g
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	100 ml
Cod	8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	60 ml
Cod	18 616	*Acidum grün*	0,45 g
Cod	20 082	*Methyl grün pyronin Pappenheim* . .	0,75 g

c) *Coloraţia cu soluţie Giemsa*

Rezultate bune se obţin şi cu colorarea frotiurilor după metoda Giemsa.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 20 740	*Solutio Giemsa*	15 ml

GIARDIA (Lamblia)

Cercetarea parazitului se face în lichidul duodenal sau în scaun.

a) *Examen în lichidul duodenal*

Examen direct

Tehnică. Recoltarea materialului se face prin tubajul duodenal. Examinarea între lamă şi lamelă trebuie făcută în primele 15—20 de minute de la recoltare sau din sediment după centrifugare.

Rezultate. Parazitul este refringent. Forma vegetativă are un corp simetric, cu o faţă dorsală bombată şi o faţă ventrală plată, prezentînd 4 perechi de flageli. Nucleii, în număr de 2, sînt ovali şi aşezaţi simetric în porţiunea anteroventrală. Giardia se distinge uşor datorită mişcărilor vioaie de rostogolire. Chisturile sînt ovoide, cu un înveliş subţire şi 2—4 nuclei.

Examenul frotiului colorat

Pentru un studiu amănunţit morfologic al formelor vegetative şi al chisturilor, se foloseşte metoda May-Grünwald-Giemsa.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

	Soluţie May-Grünwald	200 ml
	sau	
Cod 2 419 +)	*Alcohol methylicus* p. a.	200 ml
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	100 ml
Cod 19 452	*Eosin methylen blau*	2 g
Cod 20 740	*Solutio Giemsa*	15 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml

b) *Examen coprologic*

Examenul coprologic. Acesta pune în evidenţă chisturile, formele vegetative apărînd rar în scaun şi anume în mucusul scaunelor diareice sau după un purgativ.

— *Examenul direct.* Se face după ce în prealabil s-a utilizat metoda de îmbogăţire Telemann (vezi pag. 294).

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.*, D=1,19 p. a.	140 ml
Cod	1 774	*Aether aethylicus anh.* p. a.	200 ml

— *Examenul frotiului colorat cu soluție Lugol*

Reactivi : soluție Lugol.

Prepararea soluției (vezi pag. 292), cu deosebirea că apa distilată se pune la 300 de părți.

Tehnică (vezi pag. 292).

Rezultate. Chisturile apar colorate în brun.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	9 373	*Jodum metallicum purum*	0,10 g
Cod	9 695 b	*Kalium iodatum* p. a.	0,20 g
		sau	
Cod	10 384	*Lugolum solutio* p. a.	30 ml

LEISHMANIA

a) *Examenul bioptic*

Tehnică. Diagnosticul de certitudine se bazează pe identificarea Leishmaniilor în organe. În sîngele periferic, parazitul este rar și greu de găsit. La splină, ficat sau ganglioni limfatici, puncția dă uneori rezultate foarte bune. Puncția osoasă tinde astăzi să le înlocuiască pe celelalte, fiind de preferat puncția sternă sau cea tibială (la copii).

Se practică puncția osoasă după metodele cunoscute, se întind frotiurile și se colorează după metoda May-Grünwald-Giemsa.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

		Soluție May-Grünwald	200 ml
		sau	
Cod	2 419 +)	*Alcohol methylicus* p. a.	200 ml
Cod	8 154	*Glycerinum neutrale anh.* p. a. . . .	100 ml
Cod	19 452	*Eosin methylen blau*	2 g
Cod	20 740	*Soluție Giemsa*	15 ml
		sau	
Cod	2 419 +)	*Alcohol methylicus* p. a.	250 ml
Cod	8 154	*Glycerinum neutrale anh.* p. a. . . .	250 ml
Cod	18 852	*Azur II*	0,8 g
Cod	18 854	*Azur II Eosin*	3 g
Cod	13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml

Rezultate. Leishmaniile apar incluse în celule mari endoteliale sau libere, izolate sau în grupuri. După unii autori, acest examen dă 77% rezultat pozitiv.

Scanned with OKEN Scanner

S-au imaginat numeroase reacţii de orientare, care au însă dezavantajul că sînt nespecifice. Astfel :

b) *Reacţia de precipitare cu apă distilată*

Este un test de disproteinemie.

Tehnică. Peste o mică cantitate de ser sanguin în eprubetă se adaugă încet, pe pereţii acesteia, o cantitate oarecare de apă distilată (de exemplu 5 ml). La limita de separare ser-apă distilată apare un inel opalescent în cazurile pozitive. Un alt procedeu constă în adăugarea în eprubetă, peste o cantitate de ser sanguin, a unei cantităţi de 2—3 ori mai mari de apă distilată. Reacţia pozitivă este marcată de opacifiere totală.

c) *Frotiuri din leziunile cutanate*

Pentru speciile *Leishmania tropica* şi *Leishmania brasiliensis,* care au localizări cutanate, recoltarea materialului se face din leziunile pielii. Cînd leziunea nu a ajuns la ulceraţie (butonul neulcerat), se puncţionează, după dezinfectarea locului, şi se extrage o serozitate tulbure sau uşor sanguinolentă din centrul nodulului. Coloraţia se face prin *metoda Giemsa.*

Din ulceraţie, se raclează peretele ulcerului, avîndu-se grijă să nu se ajungă la sînge. Se întind frotiuri şi se colorează la fel ca mai sus.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Solutio Giemsa*	15 ml

3. HEMATOZOARUL PALUSTRU

a) *Examenul sîngelui proaspăt*

Tehnică. Examenul se face între lamă şi lamelă.

Rezultate. Agentul bolii este pus în evidenţă prin prezenţa pigmentului malaric pe fondul galben-palid al hematiei şi prin mişcările parazitului în faza de amibă. Precizarea speciei se face astfel :

— la *Plasmodium vivax* se observă o hipertrofie a hematiei parazitate, mobilitatea pseudopodelor şi structura în bastonaş a pigmentului ;

— la *Plasmodium malariae* se găseşte o dimensiune normală a hematiei parazitate, mobilitate mai redusă şi pigmentul dispus în grunji de culoare mai închisă sau brun ;

— la *Plasmodium falciparum,* identificarea gametocitilor cu forma caracteristică şi pigmentul situat central precizează diagnosticul.

b) *Examenul sîngelui în frotiu subţire*

Tehnică. Examenul se face colorînd frotiurile prin metoda May-Grünwald-Giemsa.

Rezultate. La *Plasmodium vivax* se observă hipertrofia şi colorarea palidă a hematiei parazitate, prezenţa granulaţiilor Schüffner, forma neregulată, uneori de aspect zdrenţuit a protoplasmei în stadiul de amibă şi rozeta prin numărul şi dispoziţia merozoiţilor.

Scanned with OKEN Scanner

La *Plasmodium malariae* se observă dimensiunea și colorabilitatea normală a hematiei parazitate, dispoziția în bandă ecuatorială a amibei, pigmentul melanic închis de culoare, dispus în general liniar și marginal și numărul și orientarea merozoiților în rozetă.

La *Plasmodium falciparum*, în sîngele periferic se întîlnesc numai inele și gametociți caracteristici.

Se apreciază că un examen corect al frotiului comportă examinarea a cel puțin 200 de cîmpuri microscopice.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Solutio Giemsa*	15 ml
	Soluție May-Grünwald	200 ml

c) *Examenul sîngelui în picătură groasă*

Tehnică. Se recoltează 1—3 picături de sînge din pulpa degetului, punîndu-se pe o lamă la oarecare distanță una de cealaltă. Prin mișcări ușoare circulare, cu colțul altei lame se întinde sîngele pe o suprafață mai mare. Se lasă să se usuce timp de 20—30 de minute, fără a se fixa. După uscare se colorează cu metoda Giemsa.

Rezultate. *Plasmodium vivax* se diferențiază prin mărimea parazitului, multitudinea și forma neregulată a amibelor, prin coroana de granulații Schüffner și prin caracteristicile rozetei.

Plasmodium malariae se caracterizează prin dimensiunea parazitului, culoarea închisă a pigmentului și prin aspectul rozetei. În general numărul rozetelor este deosebit de mare în sînge.

Plasmodium falciparum se diferențiază prin prezența exclusivă a inelelor.

Pentru infirmarea diagnosticului de malarie se vor examina cît mai multe cîmpuri microscopice.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Solutio Giemsa*	15 ml

II. PARAZIȚI AI TRACTUSULUI DIGESTIV

1. TREMATODE — DISTOMUM HEPATICUM (Fasciola hepatica)

Diagnosticul de certitudine îl dă punerea în evidență a ouălor de parazit.

Examenul direct

Se face din materiile fecale.

Tehnică. Cantitatea de materii fecale se amestecă bine chiar în vasul în care au fost aduse, cu o spatulă de lemn, pînă la obținerea unei mase

Scanned with OKEN Scanner

omogene. Din această masă se fac 4—5 preparate și în acest scop se ia cu o baghetă de lemn subțire o particulă care se pune pe o lamă peste care se pun 3—4 picături de apă distilată ; se amestecă, acoperindu-se apoi cu o lamelă.

Rezultate. Se pune în evidență oul de fasciolă care este mare, ovalar, de culoare galbenă-brună. Coaja este subțire, ușor deformabilă, prezentînd un opercul (căpăcel) relativ mic la unul din poli ; de remarcat capetele ușor ascuțite ale oului.

Dacă viermii sînt puțini la număr și deci în fecale se găsesc puține ouă, se va utiliza metoda de concentrare sau îmbogățire a ouălor de paraziți prin metoda Telemann.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.*, D=1,19 p. a.	140 ml
Cod	1 774	*Aether aethylicus anh.* p. a.	200 ml

2. CESTODE — TAENIA SAGINATA, TAENIA SOLIUM, TAENIA ECHINOCOCCUS, BOTRIOCEPHALUS LATUS

Taenia saginata

Diagnosticul de certitudine se bazează pe identificarea proglotelor sau a embrioforilor în scaun.

Examenul direct

Tehnică. Cantitatea de materii fecale se amestecă pînă la obținerea unei mase omogene, chiar în vasul în care au fost aduse. O particulă de mărimea unei alune se folosește la examinare, după ce în prealabil a fost utilizată metoda de îmbogățire Telemann. Se face frotiu și se examinează între lamă și lamelă.

Rezultate. Proglotele bătrîne se cunosc prin forma lor dreptunghiulară alungită, culoarea albă-opacă, dimensiunile lor de aproximativ 3 cm lungime și 1—1,5 cm lățime și prin desenul uterin. Proglotul poate fi examinat și cu lupa.

Embrioforul se recunoaște prin forma lui rotundă, ovalară, prezentînd o coajă groasă, striată, caracteristică ; în interior se remarcă un embrion cu 6 cîrlige — este embrionul hexacant.

Diagnosticul de laborator al cisticercozei se adresează examenului unor materiale recoltate prin biopsie subcutanată sau musculară. Cisticercii se studiază între două lame sub presiune, lamele fiind prinse între ele cu o clemă metalică sau un cerc elastic. Se observă scolexul cu cele 4 ventuze.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.*, D=1,19 p. a.	140 ml
Cod	1 774	*Aether aethylicus anh.* p. a.	200 ml

Scanned with OKEN Scanner

Taenia solium

Diagnosticul este asemănător, ca tehnică, celui de *Taenia saginata.*

Rezultate. Proglotele bătrîne sînt dreptunghiulare, dar mai puţin alungite. Embrioforul este rotund, avînd o coajă brună şi groasă. Cisticercul este mai mare decît cel de *Taenia saginata,* depăşind cu 1 cm ; prezintă un scolex cu coroane caracteristice de cîrlige.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.,* D=1,19 p. a.	140 ml
Cod	1 774	*Aether aethylicus anh.* p. a.	200 ml

Taenia echinococcus (Echinococcus granulosus)

Forma larvară a acestei specii produce în organism chistul hidatic.

Diagnostic. Acesta se bazează, în special, pe metode imunobiologice şi mai puţin pe identificarea elementelor parazitare în produsele organismului.

Diagnosticul imunobiologic :

— reacţia de fixare a complementului Weinberg-Pîrvu, cu antigen lichid hidatic ;

— reacţia de precipitare Fleig—Lisbone ;

— reacţia de hemaglutinare (probă indirectă).

Rezultate. Examenul microscopic pe frotiu direct poate pune în evidenţă scolecşi, cîrlige sau membrane, în spută sau în vomică, în sedimentul urinar sau în scaun. Se face întîi metoda de îmbogăţire Telemann.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.,* D=1,19 p. a.	140 ml
Cod	1 774	*Aether aethylicus anh.* p. a.	200 ml

Botriocephalus latus (Dyphyllobothrium latum)

Diagnosticul este identic, ca metodă şi tehnică, cu cel al speciei *Taenia saginata.*

Rezultate. Proglotele se recunosc că sînt mai mult late decît lungi şi prin prezenţa în mijlocul fiecărei proglote a unei pete opace şi mai brune, care este uterul plin cu ouă ; de asemenea proglotele nu se elimină niciodată izolate, ci în lanţuri.

Ouăle se elimină permanent în scaun, deci ele vor putea fi uşor găsite. Oul este ovalar, cu un înveliş bine marcat. La unul din poli prezintă un mic opercul, iar la polul opus se găseşte uneori o mică proeminenţă exterioară, ca un apendice punctiform. În interior se observă o masă vitelină granulară.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.*, D=1,19 p. a.	140 ml
Cod	1 774	*Aether aethylicus anh.* p. a.	200 ml

3. NEMATODE — ASCARIS LUMBRICOIDES, OXIURUS VERMICULARIS, TRICHOCEPHALUS, TRICHINELLA SPIRALIS, ANKYLOSTOMA DUODENALAE

Ascaris lumbricoides

Diagnosticul se face prin examenul coprologic direct, care poate pune în evidență ouăle de ascarid. La un examen negativ trebuie repetată examinarea la 10—15 zile.

Examenul direct se face ca și la ceilalți viermi intestinali. Este bine ca mai înainte să se recurgă la metoda de îmbogățire Telemann.

Rezultate. Oul este ovalar și prezintă un înveliș extern albuminos mamelonat și un înveliș intern chitinos, gros, alcătuit el însuși din mai multe straturi concentrice suprapuse.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.*, D=1,19 p. a.	140 ml
Cod	1 774	*Aether aethylicus anh.* p. a.	200 ml

Oxiurus vermicularis (Enterobius vermicularis)

Pentru diagnostic se utilizează metoda prelevării ouălor din regiunea perianală, recoltarea materialului făcîndu-se cu o baghetă specială. Se efectuează *examenul direct.*

Rezultate. Oul este ovoid, asimetric, plan-convex. Prezintă două învelișuri, ambele foarte subțiri, alăturate unul de altul și reunite între ele printr-un singur punct situat pe fața convexă, foarte aproape de unul din poli.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.*, D=1,19 p. a.	140 ml
Cod	1 774	*Aether aethylicus anh.* p. a.	200 ml

Trichocephalus (Trichuris trichiura)

Diagnosticul se face la fel ca la *Ascaris lumbricoides.*

Rezultate. Oul are o formă caracteristică, asemănătoare cu cea a unei lămîi : ovoidal, înconjurat de o coajă groasă, cu excepția celor doi poli la care prezintă cîte un mamelon albuminos.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.*, D=1,19 p. a.	140 ml
Cod	1 774	*Aether aethylicus anh.* p. a.	200 ml

Trichinella spiralis

a) *Examen direct.* Se face ca la toate nematodele.

Rezultate. Oul este rotund, fiind învelit de o membrană anhistă foarte delicată.

Examenul coprologic are valoare doar cînd rezultatul este pozitiv ; un rezultat negativ nu infirmă diagnosticul.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.*, D=1,19 p. a.	140 ml
Cod	1 774	*Aether aethylicus anh.* p. a.	200 ml

b) *Identificarea larvelor.* Se face din sînge, tot prin examenul direct.

Reactivi : acid acetic glacial.

Tehnică. Se prelevează 10 ml sînge, se amestecă cu 100 ml soluţie acid acetic 3% (pentru lizarea eritrocitelor), se centrifughează şi apoi sedimentul se examinează la microscop.

Rezultate. Reacţia dă destul de rar rezultate pozitive şi numai între a 5-a şi a 25-a zi de boală.

Larvele sînt mici, măsurînd 90—100 de microni, foarte subţiri, de formă cilindro-conică, atenuată în partea anterioară.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	300 ml

c) *Cercetarea larvelor închistate*

Tehnică. Se face o biopsie musculară, de obicei alegîndu-se muşchiul solear lîngă tendonul ahilian ; diagnosticul se face apoi prin examenul direct.

Cele mai bune rezultate le dau examenele făcute prin comprimarea fragmentului între două lame, care se fixează prin cleme sau prin două inele de cauciuc.

Rezultate. Rezultatul negativ nu infirmă diagnosticul. Metoda are dezavantajul că rezultatele pozitive apar numai în stadiul tardiv al bolii.

Cînd se găsesc, chisturile au o formă ovalară, mai rar rotundă, prezentînd la cele două extremităţi polare cîte un mic tubercul, avînd aspectul unei lămîi. Peretele chistului este stratificat şi de natură chitinoasă.

Scanned with OKEN Scanner

Ankylostoma duodenalae

Diagnosticul se face prin căutarea ouălor în materiile fecale, *prin examen direct*, după ce în prealabil s-a folosit şi metoda de îmbogăţire Telemann.

Rezultate. Oul este simetric, ovoidal, avînd o coajă foarte subţire, netedă şi transparentă.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.*, D=1,19 p. a.	140 ml
Cod	1 774	*Aether aethylicus anh.* p. a.	200 ml

III. PARAZIŢI AI PĂRULUI ŞI PIELII CAPULUI

1. CIUPERCI DERMOFITE

Trichophyton

Scuamele se recoltează prin raclare uşoară de la nivelul plăcilor, din mai multe locuri, cu ajutorul unei mici chiurete sau cu marginea unei lame şlefuite. Se vor prefera scuamele de la periferia leziunii. Astfel recoltate, acestea vor fi puse pe o altă lamă.

a) *Examenul direct*

Se face extemporaneu la microscop, între lamă şi lamelă. Mai înainte de aceasta însă, materialul va trebui clarificat (disociat) cu ajutorul unor substanţe care au acţiunea de a topi celulele cornoase, făcînd vizibilă prezenţa paraziţilor criptogamici.

Reactivi : hidroxidul de potasiu, soluţie apoasă 40%, soluţia de clorlactofenol Aman. Se va păstra în sticle închise la culoare.

Tehnică. Pe lama pe care se găsesc scuamele de cercetat se pun peste acestea 1—2 picături dintr-una din soluţiile de mai sus. Se acoperă cu o lamelă şi se trece repede pe deasupra unei flăcări mici (fără a se ajunge la fierbere). Se lasă aşa 10—20 de minute, după care se examinează la microscop.

Rezultate. Firele de păr lezate apar umplute cu spori mari, dispuşi în lanţuri; sporii sînt aproape egali, de formă rotundă, ovală sau pătrată. Lanţurile sînt paralele şi mai mult sau mai puţin continue. Mai rar, filamentele sau sporii sînt situaţi şi în afara firului de păr.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 9 670	*Kalium hydricum in rotulis purum* . .	6 g
Soluţia Aman:		
Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	6 g
Cod 1 022	*Acidum lacticum* D=1,21 p. a.	6 ml
Cod 5 505	*Chloralum hydricum* p. a.	6 g

b) *Culturi*

Se folosesc o serie de medii. Cel mai des întrebuinţat este mediul Sabouraud.

Reactivi: glucoză sau maltoză brută, peptonă. Geloză (agar-agar).

Tehnică. Într-un balon cu fundul plat se pune geloză în 1 000 ml apă obişnuită, timp de 24 de ore, după care se amestecă cu celelalte elemente de mai sus, se încălzeşte încet la autoclav pînă la 115—120°; se opreşte şi se lasă să coboare temperatura pînă la 100°, cînd se retrage balonul şi se filtrează repede mediul la cald. Se repartizează mediul filtrat în eprubete (10 ml pentru o eprubetă) şi se sterilizează la autoclavă timp de 20 de minute, urcînd temperatura progresiv pînă la 120°. În acest moment se opreşte încălzirea şi se lasă să se răcească pînă la 100°, cînd se scot eprubetele şi se lasă să se răcească complet în poziţie înclinată.

Pentru însămînţarea pe medii de cultură, materialul patologic se fragmentează pe o lamă de sticlă, cu ace de disecţie încinse şi apoi răcite. Se pune apoi materialul, cu o ansă de platină, pe suprafaţa mediului de cultură. Pe agarul înclinat din eprubetă se însămînţează 3—4 particule de material, la 1 cm distanţă una de alta. Ansa de platină se flambează de fiecare dată şi apoi se răceşte şi se umezeşte prin atingerea cu mediul de cultură.

Dacă se însămînţează fire de păr, se folosesc de obicei 1—3 eprubete. Pentru scuamele de piele însămînţarea se face în 3—5 eprubete.

Cultivarea se face parţial la termostat, la 27°, parţial la temperatura camerei (nu mai puţin de 16—18°).

Rezultate. Apariţia coloniei se face în 4—7—10 zile, în funcţie de specie. Aspectul coloniei, consistenţa şi culoarea sînt deosebite de la specie la specie.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Mediul Sabouraud:

Cod 2 286	*Agar pulvis bacto*	18 g
Cod 8 099	*Glucosum pro injectione*	40 g
Cod 13 747	*Peptonum bacto siccum purum* . . .	10 g

Microsporum

Diagnosticul se face din scuame şi fire de păr, utilizînd aceleaşi metode ca la *Trichophyton*.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultate. La scuame se observă filamente miceliene izolate sau ramificate, în general puţin septate; nu respectă limitele celulelor cornoase.

La firul de păr: filamentele sînt subţiri şi rare, găsindu-se în interiorul firului; sporii se găsesc la exteriorul firului de păr, sînt mici (2—4 microni), rotunzi, dispuşi în manşon sau mozaic; nu au o arhitectonică precisă.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 9 670	*Kalium hydricum in rotulis purum*	6 g
	Soluţia Aman :	
Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a.	6 g
Cod 1 022	*Acidum lacticum* D=1,21 p. a.	6 ml
Cod 5 505	*Chloralum hydricum* p. a.	6 g
	Mediul Sabouraud :	
Cod 2 286	*Agar pulvis bacto*	18 g
Cod 8 099	*Glucosum pro injectione*	40 g
Cod 13 747	*Peptonum bacto siccum purum*	10 g

Achorion

Diagnostic. La fel ca la celelalte ciuperci dermofite *(Trichophyton).*

Rezultate. La firul de păr, filamentele miceliene sînt cînd groase, neregulat septate, cînd subţiri, septate şi ramificate. Ele se aşază în axul lung al firului de păr, însă nu umplu niciodată complet grosimea lui ca în *Trichophyton.* Sporii se găsesc tot în interiorul firului de păr, au diferite forme (rotunzi, poliedrici, pătraţi), aşezaţi în grămăjoare mici sau aglomerări. Un semn caracteristic este prezenţa în firul de păr a unui mare număr de bule de aer.

La scuame, pe fondul celulelor stratului cornos se văd, de cele mai multe ori, filamente scurte, miceliene, sinuoase, ramificate şi sporulate, precum şi grămăjoare de spori polimorfi.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 9 670	*Kalium hydricum in rotulis purum*	6 g
	Soluţia Aman :	
Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a.	6 g
Cod 1 022	*Acidum lacticum* D=1,21 p. a.	6 ml
Cod 5 505	*Chloralum hydricum* p. a.	6 g
	Mediul Sabouraud :	
Cod 2 286	*Agar pulvis bacto*	18 g
Cod 8 099	*Glucosum pro injectione*	40 g
Cod 13 747	*Peptonum bacto siccum purum*	10 g

Actinomyces

Diagnosticul se pune prin examenul direct al scuamelor raclate de la suprafaţa placardului.

Scanned with OKEN Scanner

a) *Examen direct*

Tehnica şi materialul specific.

Rezultate. Se observă foarte numeroase filamente miceliene subţiri, fine şi sinuoase, care se desfac în segmente în formă de coci sau care par să fie alcătuite din bacili aşezaţi la rînd (ca streptobacilii). Multe filamente au îngroşări în lungul lor sau la capete. Sporii sînt rotunzi, foarte mici, situaţi între filamentele miceliului, fie în mod izolat, fie în grămăjoare.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 9 670	*Kalium hydricum in rotulis purum* . .	6 g
	Soluţia Aman :	
Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	6 g
Cod 1 022	*Acidum lacticum* D=1,21 p. a. . . .	6 ml
Cod 5 505	*Chloralum hydricum* p. a.	6 g
	Mediul Sabouraud :	
Cod 2 286	*Agar pulvis bacto*	18 g
Cod 8 099	*Glucosum pro injectione*	40 g
Cod 13 747	*Peptonum bacto siccum purum* . . .	10 g

b) *Examenul preparatelor colorate* se face prin metoda Ziehl-Neelsen.

Rezultate. Prin metoda Ziehl-Neelsen îngroşările sînt de culoare roşie.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	35 g
Cod 1 193	*Acidum nitricum fumans* D=1,52 p. a.	150 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	5 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	5 g

c) *Examenul micozelor profunde*

Micozele profunde sînt date de genul *Actinomyces* cu diferite specii : *Actinomyces albus, A. bovis* etc.

Tehnică. Se recoltează puroi din leziune şi se întinde pe o mică porţiune din lamă. Se pune deasupra o picătură de glicerină, după care se acoperă cu o lamelă.

Rezultate. Se disting, pe un fond închis, o serie de grăunţe dispuse în colonii caracteristice de formă rotundă, al căror centru este nestructurat, iar periferic are o structură radiară. Regiunea centrală a acestei formaţiuni este constituită dintr-o împletire deasă şi compactă de fire subţiri şi ramificate, conţinînd şi grăunţe pigmentate. La periferie, acest ghem micelian este înconjurat de o zonă constituită din formaţiuni care seamănă cu o gămălie de ac şi cu dilataţii în formă de balon, puternic refringente la capete. Aceste formaţiuni sînt dispuse în palisadă şi conferă coloniei o structură radiară.

Scanned with OKEN Scanner

Examenul pentru preparate colorate se face prin metoda Ziehl—Neelsen.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 8 154 *Glycerinum neutrale anhydricum* p. a. 20 ml

Candida albicans

Candida albicans este o specie din genul *Candida (Monilia)*, cunoscută sub diverse nume ca *Oidium albicans, Endomyces albicans* etc.

a) *Examenul direct*

Examenul direct se face cu material recoltat (fragmente de epiderm macerat) de la nivelul leziunii, din veziculele sau pustulele existente etc.

Tehnică. Se pun cruste sau puroi pe o lamă, se face disocierea (în cazul crustelor) sau se întinde ușor (în cazul puroiului) și se examinează la microscop cu obiectivul 7.

Rezultate. Se vor observa grămăjoare de celule, iar în scuame se vor găsi și filamente miceliene subțiri și scurte, uneori putîndu-se vedea și filamente lungi și groase de tipul mucegaiului.

Examenul direct poate pune numai diagnosticul de gen *Candida*, și nu al speciilor care fac parte din acest gen. Pentru identificarea speciei *Candida albicans* este necesară însămînțarea pe medii de cultură.

b) *Medii de cultură*

Se utilizează mediul Sabouraud, mediul P.C. (Langeron) și mediul P.C.B.

Pe aceste medii de cultură se pune în evidență prezența celulelor levurice înmugurite, mai rar a pseudomiceliilor. Pentru determinarea speciei se utilizează, cu rezultate foarte bune, mediul P.C. (Langeron).

Mediul P.C.

Metoda de preparare. 20 g pulpă de cartofi și 20 g pulpă de morcovi se lasă la macerat timp de o oră într-un litru de apă, apoi se pun la fiert timp de 5 minute. Se adaugă 20 g geloză, se lasă 2 ore să se umfle și apoi se pune la autoclav, crescînd încet temperatura pînă la 120°. Se filtrează la cald și se repartizează în tuburi (cîte 10 ml de tub), se închide cu dopuri de vată tifonată și se sterilizează la 120°, timp de 15 minute.

Rezultate. Culturile au aspect neted lucios, umed, de culoare albă-gălbuie și consistență cremoasă, ușor detașabilă de mediu. Coloniile se dezvoltă rapid în 2—3 zile.

Microscopic, singurul caracter morfologic care permite identificarea speciei *Candida albicans* este prezența clamidosporilor. Aceștia sînt celule mari (6—12 microni), rotunde, cu perete dublu și uneori cu conținut granular care apare la extremitatea unui filament micelian. Examenul cu microscopul în contrast de fază permite o evidențiere

Scanned with OKEN Scanner

deosebită a clamidosporilor, aceştia atrăgînd atenţia prin aspectul lor strălucitor care contrastează cu aspectul mai întunecat al celulelor levurice, al filamentelor şi fondului preparatului.

Mediul P.C.B. are aceeaşi compoziţie ca mediul P.C., cu deosebirea că are în plus 15% bilă proaspătă de bou. Rezultatele sînt ca mai sus.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Mediul Sabouraud :

Cod 2 286	*Agar pulvis bacto*	18 g
Cod 8 099	*Glucosum pro injectione*	40 g
Cod 13 747	*Peptonum bacto siccum purum* . . .	10 g

Mediul P. C. (Langeron)

Cod 2 286	*Agar pulvis bacto*	20 g

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL al VI-lea

EXAMENE HISTOPATOLOGICE

Scanned with OKEN Scanner

EXAMENE HISTOPATOLOGICE

Pag.

I. RECOLTAREA MATERIALULUI ANATOMOPATOLOGIC

Metode de recoltare 319

II. FIXAREA PIESELOR

A. *Fixatori simpli* 319

1. Formol 319
2. Alcool etilic 320
3. Alcool-formol 320
4. Acid tricloracetic 320
5. Acid osmic 321

B. *Amestecuri fixatoare* 321

a) *Fixatori universali* 321

1. Picroformol acetic Bouin 321
2. Lichid Bouin—Holland 322
3. Lichid fixator Susa 322
4. Lichid Dubosque—Brasil 323
5. Lichid Zenker 323
6. Lichid Zenker-formol 324
7. Lichid Maximov 324
8. Lichid Nikiforov 325

b) *Fixatori nucleari* 325

1. Lichid Allen 325
2. Lichid Carnoy 326
3. Lichid Fleming 326
4. Lichid Tellyesniczky 326

c) *Fixatori speciali* 327

Pentru condriom

1. Lichid Champy 327
2. Lichid Roschin 327
3. Lichid Regaud 327

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

4. Fixator Ţupa 328
5. Lichid Ciasovnikov 328
6. Lichid Podvîsoţki 328

Pentru grăsimi

1. Fixator Ciaccio 329

III. INCLUDEREA ŞI SECŢIONAREA PIESELOR

A. Metoda prin congelare 329

B. Metode de includere 330

1. Includerea la parafină 330
2. Includerea la celoidină 332

IV. TEHNICA GENERALĂ A SECŢIUNILOR

A. *Pregătirea şi colorarea secţiunilor* 333

1. Secţiuni la gheaţă 333
2. Secţiuni la parafină 334

B. *Montarea secţiunilor* 334

1. *Montarea în lichide nemiscibile cu apă* 334

a) Secţiuni la parafină 335
b) Secţiuni la gheaţă sau celoidină 335

2. *Montarea în lichide miscibile cu apa* 336

C. *Prepararea lichidelor* 336

a) Gelatină 336
b) Gelatină-glicerină 336
c) Sirop Apathy 336

V. COLORAŢII UZUALE

A. *Coloraţii combinate* 337

a) Coloraţia hemalaun-eozină 337
b) Coloraţia cu hematoxilină Weigert-eozină 338
c) Coloraţii tricromice 339

Metoda de colorare van Gieson 339
Coloraţia van Gieson, modificată de Hansen 341
Coloraţia tricromică Masson 341
Coloraţia policromă (Simionescu) 343

B. *Metode elective de colorare* 243

Coloraţii histologice pentru structuri tisulare sau organe . . . 343
1. *Fibre conjunctive propriu-zise (colagen)* 343

a) Coloraţia Kernechtrot 344
b) Coloraţia cu carmalaun Mayer 344
c) Coloraţia van Gieson — galben metanil (Masson) 345

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

d) Coloraţia hematoxilină-picro-Ponceau 346
e) Coloraţia cu amestecul Mallory 346

2. *Fibre elastice* 347

Metoda cu fucsină-rezorcină 347

3. *Amiloidul* 348

a) Reacţia cu iod 348
b) Reacţia metacromatică cu violet de metil 348
c) Colorarea cu roşu de Congo 349
d) Colorarea cu tricromicul Masson 349

4. *Hialinul şi coloidul* 349

Metoda Russel 349

5. *Nucleul* 350

a) Coloraţia cu hematoxilină ferică Heidenheim 350
b) Coloraţia cu carmin-alaun (Grenacher) 351

6. *Protoplasma celulară* 351

Metoda cu hematoxilină Regaud (pentru mitocondrii) . . 351

7. *Mucusul* 353

a) Coloraţia cu mucicarmin (Mayer) 353
b) Coloraţia cu tionină Hoyer 353
c) Coloraţia metacromatică cu albastru de toluidină 354

8. *Produse de depozit*

a) *Coloraţia grăsimilor neutre* 354

Coloraţia cu Sudan III (Scharlach R) 354
Coloraţia cu albastru de Nil 355

b) *Coloraţia glicogenului* 355

Coloraţia cu gumă iodată 356
Metoda Best 356
Metoda Bauer-Feulgen 357

C. *Organe hematopoetice* 358

1. *Măduva osoasă* 358

Metoda panoptică 358

2. *Ganglionul limfatic* 359

a) Metoda Giemsa 359
b) Colorarea cu hematoxilină Mayer — eozină 360

D. *Produsele proceselor inflamatoare* 361

Metoda Weigert pentru colorarea fibrinei 361

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

E. *Impregnarea argentafină* 361
Impregnarea fibrelor de reticulină 362
a) Metoda Gömöri 362
b) Metoda Wilder 363

F. *Ţesuturi — organe* 364

1. *Metode pentru ţesut cartilaginos* 364
Metoda de colorare cu vezuvină fenicată (brun Bismarck) 365

2. *Ţesut osos* 365
a) Metoda Enescu 366
b) Colorare cu tionină (Schmorl) 366

3. *Ţesut muscular* 367
Muşchi netezi 367
a) Metoda Fabre 367
b) Metoda Neubert-Petrescu 367
Fibra musculară striată 368
Coloraţia cu hematoxilină ferică Heidenheim 368
Fibra musculară cardiacă 368
Metoda Heidenheim 368

4. *Ţesuturi glandulare* 369
a) *Ficatul* 369
Metoda Farzgren pentru pigmenţi biliari 369
Evidenţierea canaliculelor biliare 370
Metoda Eppinger 370
b) *Adenohipofiza* 371
Metoda Hurduc 371
c) *Glandele suprarenale* 372
Colorarea celulelor cromafine 372
d) *Tiroida* 372
Metoda de coloraţie Bensley 373
Metoda de coloraţie Krauss 373
e) *Pancreasul* 374
Metoda Lane pentru studiul insulele Langerhans 374
Metoda Bensley 375
f) *Epifiza* 376
Metoda Hortega 376
g) *Timusul* 377
h) *Ovarul* 377
i) *Testicului* 377

G. *Pielea* 377
Metoda Pasini 377

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

VI. COLORAREA AGENȚILOR PATOGENI ÎN ȚESUTURI

a) Colorarea pentru bacterii gram-negativ și pozitiv 378
Metoda Gram 378
b) Colorarea bacilului Koch 379
Colorarea Ziehl în țesuturi 379
c) Colorarea spirochetelor prin impregnare argentică 380
Metoda Manouélian (pe piese) 380
Metoda Levaditi 380
d) Colorarea incluziunilor patologice în țesuturi 381
Cercetarea corpusculilor Babeș-Negri în turbare . . . 381
Metoda Mann 381
Metoda Zottner 382
Punerea în evidență, în ficat a incluziunilor Nicolau . . 382
Metoda Nicolau 382
Metoda Nicolau-Kopciovska 383

VII. PIGMENȚI

a) Colorarea pigmentului melanic și a celulelor argentafine 383
Metoda cu oxid de argint amoniacal 383
b) Colorarea pigmentului feruginos și feros 384
Metoda cu albastru de Prusia (reacția Perls) 384
Metoda de Vogel cu albastru Turnbull 385

VIII. SISTEMUL NERVOS

a) Metoda Golgi de colorare a celulei nervoase 385
b) Metoda de colorare a substanței cromoidale (metoda Nissl) 386
c) Metoda de impregnare a neurofibrilelor 388
Metoda Bielsowsky 388
Metodă prin tratarea prealabilă a pieselor cu piridină . 389
d) Colorarea mielinei 390
Metoda Benda-Spielmayer 390
Variantă a metodei Spielmayer 391
Metoda Loyez 392
e) Colorarea nevrogliei 392
Metoda I. T. Niculescu Horneț 392
Varianta I 392
Varianta a II-a 393
f) Metoda de impregnare a fibrelor și terminațiilor nervoase 394
Metoda Bielsowski-Gross-Schultze 394

IX. HISTOCHIMIE

1. *Evidențierea mucopolizaharidelor* 395
a) Evidențierea M.P.Z. neutre — metoda P.A.S. 396
b) Metoda Hale pentru mucopolizaharide acide 397

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

2. *Evidenţierea succindehidrogenazei* 397
Metoda Nachlas 397
3. *Punerea în evidenţă a acizilor nucleici* 398
a) Metoda Brachet, modificată de Kurnick, pentru A.D.N. şi A.R.N. 398
b) Reacţia Feulgen pentru A.D.N. 399
4. *Evidenţierea fosfatazei alcaline* 400
Metoda Gömöri 400
5. *Evidenţierea fosfatazei acide* 401

I. RECOLTAREA MATERIALULUI ANATOMOPATOLOGIC

METODE DE RECOLTARE

Materialul anatomopatologic trimis pentru examenul histopatologic poate fi un fragment recoltat dintr-o leziune oarecare, prin : biopsie, puncție (biopunctura hepatică, splenică, ganglionară, sternală), un fragment prelevat în timpul actului operator (biopsie intraoperatorie sau extemporanee), endoscopie (bronșică, gastrică, rectală) ; de asemenea, din piesele operate (examen postoperator), precum și din organele de necropsie. Biopsia mucoasei uterine se face prin chiuretaj, în scopul de a diagnostica atît diferitele metropatii și cancerul de corp uterin, cît și pentru examene histo-cito-hormonale.

Materialul poate fi, de asemenea, recoltat, pentru examen citologic pe frotiu, prin puncție simplă din leziuni tumorale sau colecții sau ganglionară pentru adenogramă. cum și pentru citologie exfoliativă (citovaginal, amprente).

II. FIXAREA PIESELOR

Pentru a nu se altera, fragmentele recoltate pentru examen histopatologic trebuiesc să fie fixate imediat după recoltare.

A. FIXATORI SIMPLI

1. **Formolul** (formaldehida sau formalina) este substanța cea mai întrebuințată pentru fixat.

Se utilizează în soluție apoasă de formaldehidă 40% (formol comercial). Se păstrează în sticle brune, bine astupate, la temperatura de +9°. Temperaturile mai scăzute polimerizează formaldehida, dînd paraformaldehidă și trioximetilenul insolubil.

Formolul este iritant, de aceea celor care lucrează cu formol li se recomandă a lua măsuri de protecție.

Formolul este un fixator universal, utilizat în special pentru grăsimi, lipoizi, sistem nervos și citologie ; face parte din compoziția multor amestecuri fixatoare, permițînd toate incluziunile și colorațiile.

Scanned with OKEN Scanner

În raport cu grosimea fragmentelor, fixarea pieselor durează 24—78 de ore (soluția de formol schimbîndu-se zilnic) ; dacă se utilizează formol la fierbere, fixarea durează 2—3 minute.

Excesul de formol din piesă, după fixare, se îndepărtează prin spălare în apă curgătoare (cîteva zile).

Prepararea soluției fixatoare este de 10—4% (deci formol comercial, diluat cu apă 1/4—1/10). De obicei :

Formol comercial 40%	. . . . :	1 volum
Apă	. . . . .	3 volume

Deoarece concentrația lui scade prin polimerizare, volatilizare și transformare în acid formic, se recomandă ca diluția să fie 1/3. Se poate adăuga pentru păstrare clorură de sodiu 9 g‰ (formol salin).

Reactivi necesari (pentru fragmente de 0,5 mm grosime)

Formaldehydum 10% (schimbat de 2—3 ori) . . . 90 ml

2. **Alcoolul etilic** (95—96°) și **alcoolul absolut** sînt fixatori indicați în special pentru cercetarea glicogenului ; ei acționează prin deshidratarea țesutului, fapt care face ca glicogenul să fie bine păstrat.

Tehnică. Difuzarea alcoolului fiind rapidă, fixarea unei piese de 0,3—0,5 mm grosime se face în 4—5 ore. Prelungirea fixării ratatinează piesa.

După fixare, din alcool piesa se trece direct în baia de parafină pentru includere. Păstrarea piesei se face în blocuri.

Reactivi necesari (pentru fragmente de 0,3—0,5 mm grosime)

Cod 2 334 +) *Alcohol aethylicus* 90° p. a. . . . . 30 ml

sau

Cod 2 335 a *Alcohol aethylicus absolutus purum* . 30 ml

3. **Alcool-formol :** 2 părți alcool 95° și 1 parte formol comercial. Fixează rapid piesele.

Reactivi necesari (pentru fragmente de 3—5 mm grosime)

Cod 2 335 a *Alcohol aethylicus absolutus purum* . 20 ml
Cod 7 809 *Formaldehydum* 40% p. a. . . . . 10 ml

4. **Acidul tricloracetic** în soluție apoasă 5%, în special pentru fixarea mușchiului striat. Fixare rapidă, între 30 de minute și 4 ore, după care piesele se trec în alcool 96°, care se schimbă de cîteva ori pentru eliminarea acidului. Intră în amestecuri fixatoare sau pentru decalcifierea oaselor (soluție 10%).

Reactivi necesari (pentru fragmente de 5 mm grosime)

Pentru mușchi :

Cod 1 609 *Acidum trichloraceticum* p. a. . . . . 2,5 g

Pentru os :

Cod 1 609 *Acidum trichloraceticum* p. a. . . . . 5 g

Scanned with OKEN Scanner

5. **Acidul osmic** sau tetraoxidul de osmiu este un lichid incolor foarte toxic. Se livrează în fiole speciale de sticlă, de 0,10—1 ml. Sub 15° este cristalizat. La temperatura camerei este lichefiat.

Este foarte bun fixator al citoplasmei, folosind soluţie 1—2%, fie vapori de tetraoxid de osmiu (1—2 picături într-o sticlă de ceasornic) şi ţinînd frotiul sau secţiunea de fixat deasupra, fără a atinge soluţia, timp de 1—2 ore. Păstrarea acidului osmic necesită precauţii speciale.

Prepararea soluţiei se face în recipiente cu dop şlefuit şi prevăzute cu capsulă de sticlă. Fiola se spală pe dinafară cu soluţie de bicromat şi acid sulfuric, apoi acid sulfuric diluat şi clătită cu apă de robinet şi apă distilată; se crestează cu pilă de fiole (fără a o deschide), fiind ţinută cu un cleşte curat de lemn. Se introduce fiola apoi în recipient, care se astupă cu dopul şi capsula; recipientul se agită pînă se sparge fiola cu acid osmic. Se adaugă apoi, *atent*, 50—100 ml apă distilată.

Reactivi necesari (pentru un frotiu sau secţiune)

Cod 1 245 *Acidum osmicum solutio* 2% . . . . . II picături

B. AMESTECURI FIXATOARE

După indicaţii, se grupează în: fixatori universali, nucleari şi speciali.

Prima grupă este utilizată, în mod curent, în laboratorul de histopatologie. Soluţiile fixatoare din celelalte grupe sînt, în general, folosite în laboratoare cu înaltă tehnicitate pentru studii speciale.

a) *Fixatori universali*

1. **Picroformolul acetic Bouin.** Este un bun fixator al elementelor celulare. Durata fixării: 24—72 de ore, după grosimea piesei. Se recomandă fragmente mici (5 mm). Atenţie la suprafixare!

Este contraindicat pentru organele hematopoetice, studiul condriomului şi al eritrocitelor.

Preparare. Se prepară în momentul întrebuinţării.

Formula

Formol comercial 40%	10 volume
Soluţie apoasă saturată acid picric	30 de volume
Acid acetic cristalizabil	2 volume

Notă. Se păstrează de obicei sub formă de soluţie de bază, formată din:

Formol 40%	1 parte
Soluţie apoasă saturată acid picric	3 părţi

În momentul întrebuinţării se adaugă, la 100 ml soluţie bază, 5 ml acid acetic glacial (în lipsă, 2 ml tricloracetic).

După ce au fost fixate — pentru a fi secţionate la gheaţă — piesele se spală bine cu apă. Nu se recomandă includerea la celoidină, deoarece acidul picric difuzînd în această substanţă, ea devine sfărîmicioasă.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru un fragment de 5 mm grosime)

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	2 ml
Cod	1 397	*Acidum picricum* p. a.	1,20 g
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	10 ml

2. **Lichidul Bouin-Holland** (picroformol cupric Holland) este un fixator care se conservă indefinit.

Formula

Acetat neutru de cupru	2,50 g
Acid picric	4 g
Apă distilată	100 ml
Formol	10 ml
Acid tricloracetic 2%	2 ml

Preparare. Se dizolvă în mojar, prin frecare, 2,5 g acetat neutru de cupru în 100 ml apă distilată. Se adaugă 4 g de acid picric cristalizat. Se filtrează. Se adaugă apoi, la filtrat, 10 ml formol comercial 40% și 2 ml acid tricloracetic 2% (sau 1 ml acid acetic glacial).

Durata fixării : 1—3 zile.

După fixare, piesele sînt spălate timp de 24 de ore, în apă, după care se trec în alcool.

Indicații : fixează în special peptonele și lipoizii ; recomandat pentru coloraţiile obișnuite.

Contraindicații : ca la precedentul fixator.

Reactivi necesari (pentru un fragment de 5 mm grosime)

Cod	1 397	*Acidum picricum* p. a.	1,60 g
Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum cryst.* p. a. .	0,8 g
Cod	5 921 +)	*Cuprum aceticum oxydatum* pt. a. . .	1 g
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	1 ml

3. **Lichidul fixator Susa** este fixatorul pentru citoplasmă și nucleu, mucus și glicogen, cum și pentru fibrele conjunctive. Nu fixează grăsimile și lipoizii.

Formula

Sublimat	4,5 g
Clorură de sodiu	0,5 g
Acid tricloracetic	2 ml
Acid acetic glacial	4 ml
Apă distilată	80 ml
Formol 40%	20 ml

Preparare. În 80 ml apă distilată se dizolvă 4,5 g sublimat ; se adaugă apoi 0,5 g clorură de sodiu, iar după dizolvare 2 ml de acid tricloracetic, 4 ml acid acetic glacial și 2 ml formol 40%.

Durata fixării : 1—24 de ore, în raport cu grosimea piesei. Prelungirea fixării produce artefacte. Prin fixare piesele se albesc. După fixare, acestea sînt spălate

cu alcool 96°. Sublimatul se scoate cu cîteva picături de soluţie Lugol pe secţiune; se lasă 10—15 minute şi se varsă. Iodul se scoate apoi turnînd pe lamă cîteva picături de soluţie de hiposulfit de sodiu 5%. După 10—15 minute se spală bine cu apă.

Indicaţii. În toate colorаţiile uzuale.

Atenţiune. Nu se va lucra cu instrumente de metal, fiind atacate, ci numai de plastic, corn sau sticlă.

Reactivi necesari (pentru un fragment de 5 mm grosime)

Cod 133	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	2 ml
Cod 1 609	*Acidum trichloraceticum cryst.* p. a. .	1 g
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	10 ml
Cod 8 716 a	*Hydrargyrum bichloratum cryst.* p. a.	2,25 g
Cod 10 384	*Lugolum solutio* p. a.	10 ml
Cod 11 860 A	*Natrium chloratum cryst.* p. a. . . .	0,25 g
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	0,50 g

4. **Lichidul Dubosque-Brasil** produce fixări rapide, bun pentru studiul biopsiilor.

Formula

Acid picric cristale	1 g
Acid acetic glacial	15 ml
Alcool 80°	150 ml
Formol 40%	60 ml

Preparare. Se dizolvă 1 g de acid picric cristalizat în 150 ml alcool 80°. Se adaugă apoi, în momentul utilizării, 15 ml acid acetic glacial şi 60 ml formol 40%. *Durata fixării:* 12—24 de ore, după care piesa se trece direct în alcool 90°.

Indicaţii şi contraindicaţii: ca la lichidul Bouin. Favorizează în plus colorаţiile pentru incluziuni uratice.

Reactivi necesari (pentru un fragment de 3—5 mm grosime)

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	5 ml
Cod 1 397	*Acidum picricum* p. a.	0,33 g
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	20 ml
	Alcohol 80°	50 ml

5. **Lichidul Zenker** este format din soluţia Müller la care se adaugă sublimat.

Formula

Soluţie Müller	100 ml
Sublimat corosiv	5 g

În momentul fixării se adaugă, la 100 ml soluţie Zenker, 5 ml acid acetic.

Preparare. Soluţia Müller conţine: sulfat acid de sodiu 1 g şi bicromat de potasiu 2,5 g, dizolvate la cald în 100 ml apă distilată. La 100 ml din soluţia Müller se adaugă apoi 5 g sublimat corosiv. Aceasta este soluţia Zenker. În momentul întrebuinţării, la 100 ml lichid Zenker se mai adaugă 5 ml acid acetic glacial.

Scanned with OKEN Scanner

Durata fixării : 10—24 de ore (grosimea pieselor de 3 mm). După fixare, piesa se spală 24 de ore în apă de conductă ; apoi se păstrează în alcool 70°. Fixările prelungite alterează nucleii, în schimb pun în evidenţă mitocondriile din citoplasmă.

Sublimatul se îndepărtează din piese tratînd secţiunea cu soluţie Lugol, ca la lichidul Susa.

Indicaţii. Fixator pentru toate coloraţiile uzuale, pentru organele hematopoetice şi glande (conservă secreţia).

Soluţia Müller este un bun fixator pentru sistemul nervos, în special pentru mielină.

Reactivi necesari (pentru un fragment de 5 mm grosime)

Cod 136	*Acidum aceticum anhydricum* p. a. .	2 ml
Cod 8 715 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst.* pur .	2 g
Cod 9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . .	1 g
Cod 10 384	*Lugolum solutio* p. a.	10 ml
Cod 11 782	*Natrium bisulfurosum cryst.* p. a. . .	0,50 g
Cod 12 367	*Natrium sulfurosum cryst.* p. a. . . .	0,40 g

6. **Zenker-formol** este soluţia Zenker la care se adaugă, în momentul fixării, formol 40% neutru (în loc de acid acetic glacial) ; la 9 părţi soluţie Zenker, 1 parte formol, amestecînd bine.

Durata fixării : 8—24 de ore pentru citologie şi hematologie şi chiar 1—2 zile pentru mitocondrii. După fixare se spală în apă de robinet şi apoi în alcool 90°, în care se păstrează. Dacă se formează cristale de sublimat, se va debarasa de ele, acoperind pe lamă secţiunile cu Lugol, apoi cu hiposulfit de sodiu 5% şi spălat bine cu apă.

Indicaţii. Toate coloraţiile uzuale, ca şi pentru Romanovski, eritrozină-oranj, albastru de toluidină.

Reactivi necesari (pentru un fragment de 5 mm grosime)

Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	5 ml
Cod 8 715 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst.* pur .	2 g
Cod 9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . .	1 g
Cod 10 384	*Lugolum solutio* p. a.	10 ml
Cod 11 782	*Natrium bisulfuricum cryst.* p. a. . .	0,50 g
Cod 12 367	*Natrium sulfurosum cryst.* p. a. . . .	0,40 g

7. **Lichidul Maximov** este derivat din Zenker-formol, la care se adaugă 10 ml soluţie acid osmic 2%. Se prepară în momentul fixării.

Conţine

Sulfat acid de sodiu	1 g
Bicromat de potasiu	2,5 g
Sublimat corosiv	5 g
Formol 40% (neutru)	10 ml
Acid osmic 2%	10 ml
Apă distilată	100 ml

Scanned with OKEN Scanner

Modul de preparare : ca mai sus.

Durata fixării. Pînă la 24 de ore.

Indicații. Pentru cercetări fine și organe hematopoetice. Se pot face toate colorațiile ; grăsimile se colorează în negru.

Reactivi necesari (pentru un fragment de 5 mm grosime)

Cod 1 245	*Acidum osmicum solutio* 2% p. a. . .	4 ml
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	4 ml
Cod 8 716 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst.* p. a.	2 g
Cod 9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . .	1 g
Cod 10 384	*Lugolum solutio* pt. a.	10 ml
Cod 12 367	*Natrium sulfurosum cryst.* p. a. . . .	0,40 g
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	0,50 g

8. **Lichidul Nikiforov** este derivat tot din formula Zenker.

Formula :

Bicromat de potasiu	50 ml
Soluție apoasă de sublimat în soluție clorurată 0,9%	150 ml
Acid osmic 2%	7—10 ml
Acid acetic glacial	3—5 picături

Are aceleași indicații ca și lichidul Maximov.

Reactivi necesari (pentru un fragment de 0,5 cm grosime)

Cod 136	*Acidum aceticum anhidricum* p. a. . .	II picături
Cod 1 245	*Acidum osmicum solutio* 2% p. a. . .	2 ml
Cod 9 540 +)	*Kalium bichromicum* 96—98% p. a. .	1 g
	Hydrargyrum bichloratum soluție saturată clorurată 0,9%	20 ml

b) *Fixatori nucleari*

1. **Lichidul Allen** este un derivat al picroformolului acetic.

Preparare. În 75 ml soluție saturată, acidul picric se amestecă cu 25 ml formol 40% și 5 ml acid acetic glacial. Se încălzește la 38° și se dizolvă prin agitare 1,5 g acid cromic cristalizat și 2 g uree cristalizată.

Durata fixării. Pînă la 2 ore, pentru fragmente de 4—5 mm. Fixarea se face la 37°.

Se folosește pentru studiul mitozelor.

Reactivi necesari (pentru un fragment de 3—4 mm grosime)

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	2 ml
Cod 662 A	*Acidum chromicum anhydricum purum*	0,60 g
Cod 1 397	*Acidum picricum* p. a.	1,20 g
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	10 ml
Cod 16 441	*Uree puriss.*	0,7 g

Scanned with OKEN Scanner

2. **Lichidul Carnoy**

Formula

Alcool absolut	60 ml
Cloroform	30 ml
Acid acetic glacial	10 ml

Durata fixării. 1—3 ore pentru piese mici, în care timp se schimbă lichidul de 2 ori. După fixare, piesa se ține în alcool absolut.

Este indicat pentru fixarea nucleului, citoplasmei și pentru glicogen; permite toate colorațiile uzuale.

Reactivi necesari (pentru un fragment de 3—4 mm grosime, lichidul fiind schimbat de 2 ori)

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	10 ml
Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	60 ml
Cod	5 563 a	*Chloroformium* p. a.	30 ml

3. **Lichidul Fleming** (cromo-aceto-osmic)

Formula

Acid cromic soluție 1%	15 ml
Acid osmic soluție 2%	4 ml
Acid acetic glacial	1 ml

În momentul fixării se adaugă, la 19 ml lichid Fleming, încă 1 ml acid acetic.

Durata fixării. 24—48 de ore pentru piesele foarte mici (2 mm grosime) după ce au fost înainte bine spălate de sînge. După fixare, spălare timp de 24 de ore în apă de robinet, apoi trecute în alcool.

Recomandări : colorații cu hematoxilină ferică, Heidenheim, safranină. Includerea numai la parafină.

Reactivi necesari (pentru un fragment de 2 mm grosime)

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* 1%	2 ml
Cod	1 245	*Acidum osmicum solutio* 2% p. a. . .	8 ml
		Acidum chromicum soluție 1% . . .	30 ml

4. **Lichidul Tellyesniczky**

Preparare. La 100 ml soluție 3% de bicromat de potasiu se adaugă, în momentul întrebuințării, 5 ml acid acetic glacial.

Durata fixării. 1—2 zile, după care se spală 24 de ore în apă de conductă.

Deshidratarea pieselor în alcooluri de concentrație crescîndă începînd cu 15%.

Alterează citoplasma.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru un fragment de 3—4 mm grosime)

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . . .	2 ml
Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . . .	1,2 g

c) *Fixatori speciali*

Pentru condriom

1. **Lichidul Champy** (derivat din lichidul Fleming)

Formula

Bicromat de potasiu 3%	7 ml
Acid cromic soluţie 1%	7 ml
Acid osmic soluţie 2%	4 ml

Durata fixării. 24 de ore. După fixare, piesele sînt cromate în soluţie 2% de bicromat de potasiu, timp de 3—8 zile. Spălare în apă 24 de ore. Includere la parafină.

Reactivi necesari (pentru un fragment de 3 mm grosime)

Pentru *fixare*

Cod	1 245	*Acidum osmicum solutio* 2%	12 ml
Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . . .	0,63 g
		Acidum chromicum soluţie 1% . . .	21 ml

Pentru *cromare*

Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . . .	1 g

2. **Lichidul Roschin**

Formula

Acid osmic soluţie 2%	10 ml
Bicromat de K soluţie 2,5%	5 ml

Durata fixării: 24 de ore, apoi spălare în apă de robinet timp de 24 de ore.

Reactivi necesari (pentru un fragment de 3 mm grosime)

Cod	1 245	*Acidum osmicum solutio* 2%	30 ml
Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . . .	0,38 g

3. **Lichidul Regaud,** fixator special pentru citoplasmă şi condriom.

Formula

Bicromat de potasiu soluţie apoasă 3% . .	80 ml
Formol 40% (neutru)	20 ml

Se prepară în momentul fixării pieselor.

Scanned with OKEN Scanner

Durata fixării : 4—6 zile pentru piese mici (1—2 mm grosime), schimbînd zilnic lichidul. După fixare, piesele se trec în soluţie 3% de bicromat de potasiu timp de 8—28 de zile, în care timp se schimbă lichidul de cîteva ori. Această postcromazie are rolul de a insolubiliza condriomul şi a-i favoriza colorarea. Apoi spălare în apă de conductă.

Reactivi necesari (pentru un fragment de 1—2 mm grosime)

Pentru *fixare*		
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	40 ml
Cod 9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur (pentru 160 ml soluţie 3%)	4,8 g
Pentru *cromare* (schimbînd lichidul de 3 ori)		
Cod 9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur (pentru 150 ml soluţie 3%)	4,5 g

4. **Fixatorul Ţupa** (fixator pentru condriomul celulei nervoase). Este un amestec din 100 ml lichid Regaud cu 1 g de nitrat de uraniu. Este un fixator cu rezultate constante.

Durata fixării : 48 de ore, schimbînd lichidul după 24 de ore, apoi spălare în apă.

Se pot fixa şi piese mari.

Reactivi necesari (pentru fixarea unui fragment de 3 mm grosime, schimbînd de 2 ori lichidul fixator)

Cod 9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . . .	1,80 g
Cod 16 422	*Uranium nitricum* p. a.	0,6 g

5. **Lichidul Ciasovnikov.** Este un amestec din : soluţie clorurată 0,9% saturată în sublimat 30 ml şi soluţie 2% acid osmic 10 ml, adăugîndu-se apoi 3—5 picături de acid acetic glacial.

Reactivi necesari (pentru un fragment de 4—5 mm grosime)

Cod 1 245	*Acidum osmicum solutio* 2%	10 ml
	Hydrargyrum bichloratum soluţie clorurată 0,9% saturată	30 ml

6. **Lichidul Podvîsoţki.** Este un amestec din : 100 ml din soluţie apoasă 5% de sublimat, cu 15 ml acid cromic 1%, 4 ml acid osmic 2% şi 6—8 picături de acid acetic glacial.

Reactivi necesari (pentru un fragment de 4 mm grosime)

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	III picături
Cod 1 245	*Acidum osmicum solutio* 2%	1,4 ml
Cod 8 715 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst.* pur	2 g
	Acidum chromicum soluţie 1% . . .	5 ml

Scanned with OKEN Scanner

Pentru grăsimi

Fixatorul Ciaccio

Formula

Bicromat de potasiu soluţie 5%	80 ml
Formol 40%	20 ml
Acid formic	4—5 picături
(sau acid acetic glacial 5 ml)	

Durata fixării : 2 zile.

Piesele fixate sînt cromizate cu soluţie apoasă de bicromat de potasiu 3%, aceasta variind ca timp în raport cu grăsimea fixată astfel : pentru fosfatide nesaturate (mielină, ovolecitină etc.), 1—2 zile, colesterol şi esteri de colesterol 2—4 zile, fosfatide saturate 5 zile.

După cromizare, se spală cu apă de robinet 24 de ore, se trece în alcooluri de concentraţie crescîndă timp de 24 de ore, se trece apoi în alcool absolut 1—2 ore, în sfîrşit se trece în sulfură de carbon sau benzen şi se include la parafină.

Reactivi necesari (pentru un fragment de 5 mm grosime)

Pentru *fixare* :

Cod	830	*Acidum formicicum* 98—100% p. a. .	II picături
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	10 ml
Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur (pentru 40 ml soluţie 5%)	2 g

Pentru *cromare* :

Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur (pentru 40 ml soluţie 3%)	1,20 g

Tot pentru grăsimi se mai recomandă fixarea în formol, în amestec cromo-aceto-osmic Fleming,lichidul Maximov.

Notă. La toţi fixatorii, calculul reactivilor necesari s-a făcut în raport cu piesele de fixat, între 2 şi 5 mm grosime ; la piesele mai mari sau mai mici, calcularea soluţiei de fixat se face ţinînd seama ca volumul fixatorului să fie de 30—50 de ori mai mare decît volumul piesei de fixat, pentru a nu se produce diluarea soluţiei.

III. INCLUDEREA ŞI SECŢIONAREA PIESELOR

A. METODA PRIN CONGELARE

Indicaţii. În special pentru diagnostic rapid, histochimic, oxidaze, peroxidaze, grăsimi etc.

Avantaje. Secţionarea se poate face imediat, chiar în timpul operaţiei (examen extemporaneu) ; se pot secţiona piese dure, ca şi cele care au un ţesut omogen.

Scanned with OKEN Scanner

Material. Acid carbonic lichid care, trecînd prin platina microtomului, în contact cu aerul devine gazos şi produce o răcire şi îngheţare a apei şi a piesei.

Tehnică. După fixare în formol 10%, piesele se spală foarte bine într-un curent de apă de conductă, pentru a îndepărta resturile de formol care împiedică congelarea.

Piesele sînt aşezate apoi pe platina microtomului, pe care în prealabil s-a pus o hîrtie de filtru muiată în apă şi se congelează pînă cînd piesa capătă consistenţa convenabilă şi apoi se secţionează.

Secţiunile sînt trecute fie în cristalizor cu apă, fie în cristalizor cu alcool după colorafiile care trebuie făcute. De aici sînt trecute pe rînd, cu ajutorul unui ac de disociat, în cristalizoarele cu coloranţi şi reactivi ai bateriei de colorare.

B. METODE DE INCLUDERE

Pentru includere se întrebuinţează de obicei parafina şi celoidina. Nefiind miscibile cu apa, se vor întrebuinţa solvenţi.

1. Includerea la parafină

Este metoda cea mai simplă, dînd secţiuni subţiri, succesive în panglică, putîndu-se urmări leziunea. Se pretează la toate colorafiile şi după toate fixările.

Material. Parafină ameliorată prin adăugare de 5—10% ceară de albine pentru a o face omogenă şi fuzibilă la 52—56°;

solvenţi ai parafinei: xilol, benzol sau toluol;

etuvă de parafină, reglabilă la 56°;

flacoane cu dop şlefuit;

alcool etilic diferite concentraţii sau dioxan;

baterie cu pahare Borrel.

Tehnică. Primul timp după fixarea şi spălarea bună a piesei este *deshidratarea.* Aceasta se face cu alcool etilic, metilic sau dioxan.

Cu alcool etilic. Piesa se trece în băi succesive de alcool etilic:

baia I alcool 80°
baia a II-a alcool 90°
baia a III-a alcool 95° (sau absolut)
baia a IV-a alcool absolut
baia a V-a alcool absolut

În fiecare baie se ţine 1—6 ore, în raport cu natura şi volumul piesei. Deshidratarea trebuie să fie perfectă, de ea depinzînd clarificarea şi includerea.

Cu alcool metilic. După cele 5 băi de alcool etilic (ca mai sus), se continuă cu încă 3 băi de alcool metilic. De aici se trece direct în parafină pentru includere. Fiind toxic şi iritant al căilor respiratoare, trebuie mare atenţie la manipulare.

Scanned with OKEN Scanner

Cu dioxan. Două sau trei băi cu dioxan pur a cîte 8 ore, de unde se trece direct în parafină pentru includere.

Clarificarea constă în scoaterea alcoolului din piesă cu un solvent al parafinei (xilol, benzol sau toluol).

Piesa fiind scoasă din ultimul alcool, se trece în 3 băi de xilol (toluol sau benzol) a cîte 1—8 ore după volumul piesei. Cînd piesa devine semitransparentă, este clarificată. A nu se prelungi timpul în baia de xilol, pentru a nu se întări piesa !

Parafinarea constă în îmbibarea piesei cu parafină.

Din ultima baie de xilol (toluol sau benzol), piesa se trece în 3 băi succesive de parafină topită la 56°, cu scopul ca aceasta să se substituie reactivului clarificator din piesă.

Durata băilor variază între 1 și 8 ore și chiar mai mult, pînă la eliminarea completă a solventului, pentru a nu se produce retracția piesei.

Incluzia piesei în bloc. După ce s-au așezat barele Leckardt, pentru a forma cadrul blocului, se varsă parafina topită (din baia a III-a) pînă la nivelul superior al formei, apoi cu o pensă încălzită (la 60°), se scoate piesa din ultima baie de parafină și se introduce în formă. Se lasă apoi să se răcească.

Secționarea la parafină. *Prepararea blocului* se face tăindu-l cu un bisturiu, în formă de paralelipiped, cu fețele paralele, pentru a se obține prin secționare o panglică continuă și dreaptă.

Se încălzește placa portobiect a microtomului, pe care apoi se aplică blocul cu baza sa, producîndu-se o ușoară topire și lăsîndu-se apoi să se răcească. Blocul rămîne lipit de portobiect.

Secționarea se face cu ajutorul microtomului de parafină, căpătîndu-se secțiuni subțiri (de 3—5 microni) în panglică.

Lipirea secțiunilor pe lamă. Lamele degresate, ținute în alcool, sînt uscate și unse, în momentul întrebuințării, cu albumină Mayer, în strat foarte subțire.

Se pune lama unsă pe platina încălzitoare și se toarnă apă, peste care se aplică secțiunile cu fața lucioasă în jos. Prin căldură secțiunile se deplisează și se întind.

Se varsă apoi apa cu atenție și se lasă lama înclinată ca să se usuce la termostat.

Prepararea albuminei Mayer. Un albuș de ou amestecat în vas, fără a face spumă, se filtrează și se adaugă o cantitate egală de glicerină (circa 50 ml). Se pune în sticlă și se adaugă cîteva cristale de timol sau salicilat de sodiu.

Notă. Alcoolul etilic absolut se prepară din alcool etilic de 95°, din care trebuie scoasă apa.

Se folosesc mai multe metode. Cea mai întrebuințată este *metoda cu sulfat de cupru.* Prin amestecarea alcoolului 95° cu SO_4Cu calcinat, acesta va absorbi apa din alcool. Se adaugă 1 volum SO_4Cu amorf la 2 volume alcool 95°; se va trece prin 3 borcane cu SO_4Cu la 24—48 de ore interval. Borcanele vor fi bine închise cu dop șlefuit. După 3—5 zile se va filtra. Se obține un alcool absolut, cu un pH acid.

Scanned with OKEN Scanner

Calcinarea SO_4Cu, care se găseşte sub formă de cristale albastre-verzui, se face într-o capsulă de porţelan prin încălzire moderată pînă ce cristalele devin o pudră albă-cenuşie.

Cum se încearcă un alcool absolut ? Într-un godeu sau eprubetă se pune puţin *xilol*, peste care se adaugă o picătură din alcoolul de încercat. Alcoolul absolut nu trebuie să tulbure xilolul. Este un alcool care conţine sub 3% apă.

Proba cu *antrachinonă* este mai sensibilă, ea arătînd prezenţa chiar a urmelor de apă. La o mică cantitate de alcool de încercat se adaugă 1 mg antrachinonă şi 4 mg amalgam de sodiu. Dacă alcoolul conţine chiar urme de apă, se produce o culoare roşie ; dacă este anhidru, se produce o coloraţie verde.

Reactivi necesari (pentru o baterie de deshidratare şi clarificare a pieselor incluse la parafină, schimbarea reactivilor din baterie făcîndu-se la 2 săptămîni)

Deshidratarea şi clarificarea pieselor

Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	800 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus abs. purum* . . .	1 200 ml
Cod 2 417	*Alcohol methylicus* p. a.	1 200 ml
	sau	
Cod 6 869	*Dioxanum* p. a.	1 200 ml
Cod 16 974	*Xilolum (-thyophen) purum*	1 200 ml
	sau	
Cod 3 937	*Benzolum* D=0,879 p. a.	1 200 ml
	sau	
Cod 16 138	*Toluolum* p. a.	1 200 ml

Includerea pieselor în parafină (pentru 1 000 blocuri)

Cod 5 228	*Carboanimalis pulvis puriss.*	30 g
Cod 5 352	*Cera flava purum*	300 g
Cod 13 676	*Paraffinum hystologicum* 50—52° *purum*	3 000 g

Lipirea secţiunilor pe lame (pentru 1 000 lame)

Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	50 g

2. Includerea la celoidină

Celoidina este o soluţie concentrată de dinitrat de celuloză (fulmicoton) în părţi egale de alcool-eter.

Avantaje. Permite secţiuni mari şi include bine organe cavitare (ochi, chisturi) sau ţesuturi tari (os decalcificat, piele).

Se poate utiliza după majoritatea fixatorilor, afară de cei cu acid picric.

Tehnica includerii constă în :

— *Deshidratarea piesei* (ca la includerea la parafină). Piesele trebuie să fie foarte bine deshidratate. Se va întrebuinţa alcool absolut anhidru. În fiecare baie, piesele se vor ţine 2—4 zile.

Scanned with OKEN Scanner

— Se trece apoi în 3 băi de alcool absolut şi eter în părţi egale (pentru a se perfecta deshidratarea), cîte 12—24 de ore (pînă la 3—7 zile) în fiecare baie.

— Trecerea apoi în 3 băi de celoidină dizolvată în alcool-eter şi anume :

baia I celoidină 2%, timp de 2— 4 zile ;
baia a II-a celoidină 4%, timp de 4— 8 zile ;
baia a III-a celoidină 8%, timp de 8—10 zile.

Timpul este în raport cu grosimea pieselor.

Bateriile de celoidină, formate din borcane cu dop şlefuit, vor fi ţinute într-un exicator cu Cl_2Ca, care să formeze o atmosferă uscată. Dacă soluţia începe să se îngroaşe, se va înlocui ; la fel cînd ea se tulbură.

Montarea pieselor se face în cristalizoare speciale de sticlă, pătrate sau rotunde, înalte cu 4—5 cm şi late cu 2—3 cm mai mult decît piesa care se montează.

Se toarnă în cristalizor, peste piesa care a fost aşezată cu faţa de secţionat în jos, celoidină 8—10% (soluţie neîntrebuinţată), pînă depăşeşte suprafaţa superioară a piesei cu 2—3 cm. Se lasă să se întărească (1—3 zile) sub clopot de sticlă. Blocurile scoase din cristalizor vor fi păstrate în alcool 70—80°.

Lipirea blocurilor de celoidină. Blocurile scoase din alcool se decupează, lăsîndu-se o ramă de 1—2 mm. Se înmoaie faţa de lipit în soluţie celoidină 8—10% şi apoi se aplică pe portobiectul de lemn, care a fost în prealabil muiat în alcool-eter şi s-a aplicat un strat subţire de celoidină, presîndu-l uşor pînă la uscarea completă. Blocurile astfel lipite se ţin în baie de alcool 70° pînă a doua zi cînd se secţionează.

Secţionarea blocurilor se face cu microtomul de celoidină.

Lipirea secţiunilor pe lamă. După ce lamele au fost unse cu albumină Mayer, ca la secţiunile de parafină, se desfac secţiunile de pe cuţit cu o pensulă îmbibată în alcool 70° şi se întind pe lamă. Se lasă apoi să se usuce.

Reactivi necesari (calculaţi la 1 000 de blocuri celoidină)

Cod	1 774	*Aether aethylicus anh.* p. a.	1 500 ml
Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* . .	2 500 ml
Cod	5 318	*Celloidinum hystologicum purum* . .	500 g

IV. TEHNICA GENERALĂ A SECŢIUNILOR

A. Pregătirea şi colorarea secţiunilor

1. **Secţiunile la gheaţă** fiind ţinute în apă, pot fi trecute direct în soluţia de colorat ; la fel cele de la celoidină, în afară de cazurile cînd se folosesc soluţii apoaşe de colorare, trebuind întîi să fie hidratate.

Scanned with OKEN Scanner

Toate aceste secţiuni se colorează în cristalizoare de porţelan sau sticle de ceasornic, manipularea lor făcîndu-se cu acul de disociat sau ace de sticlă, făcute la flacără, ca pipetele Pasteur.

După colorare, din soluţia de clarificare secţiunile sînt culese cu ajutorul spatulei şi a acului de disociat, fiind întinse pe lamă, uscate şi apoi montate.

2. **Secţiunile de parafină,** care sînt deja întinse şi lipite pe lamă, trebuie întîi tratate pentru a îndepărta parafina cu care sînt îmbibate, aceasta nefiind miscibilă nici cu apa şi nici cu alcoolul. În acest scop, înainte de colorare ele trebuie *deparafinate* şi apoi *hidratate.*

Deparafinarea secţiunilor se face trecînd lamele în băi cu dizolvanţi ai parafinei (benzol, xilol sau toluol). De obicei se foloseşte o baterie cu 6 pahare Borrel, primele 3 cu benzol (xilol sau toluol), iar ultimele 3 băi de alcool (I—96° : II—80° şi III—70°).

Reactivi necesari

Cod 16 974	*Xilolum (-thyophen) purum*	1 300 ml
	sau	
Cod 16 138	*Toluolum* p. a.	1 300 ml
	sau	
Cod 3 937	*Benzolum* D=0,879 p. a.	1 300 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* . .	1 200 ml

Hidratarea. Din ultimul alcool, lamele cu secţiuni se trec în 2—3 pahare cu apă distilată.

Se recomandă ca la trecerea lamelor dintr-o baie de benzol în alta, acestea să fie şterse rapid de excesul de dizolvant, întrucît parafina pe care o conţine s-ar depune în băile următoare. Acelaşi lucru se va face şi la trecerea dintr-un alcool în altul.

Colorarea se face trecînd lamele în pahare Borrel cu coloranţi, fie punînd lama orizontal pe o tăviţă de colorat şi turnînd peste ea o cantitate suficientă de colorant sau reactiv din sticle picătoare, după care se varsă. Primul procedeu este mai economic, cel de al doilea consumînd cantităţi mari de coloranţi şi reactivi.

Pentru a se evita uscarea secţiunilor, devenind astfel inutilizabile, se va avea grijă ca în toţi aceşti timpi (operaţiile de deparafinare, hidratare şi colorare) secţiunile să fie acoperite de lichidele din paharele care formează băile respective.

B. Montarea secţiunilor

1. Montarea în lichidele nemiscibile cu apa

Natura lichidelor

— ulei de cedru ;

— balsam de Canada.

Tehnica montării. Balsamul de Canada şi uleiul de cedru sînt miscibile în alcool; pentru a nu se decolora din cauza îmbibării secţiunii cu alcool, se va scoate acesta cu un solvent al balsamului de Canada şi uleiului de cedru, ele fiind insolubile în apă.

Scanned with OKEN Scanner

a) **Secţiuni la parafină**

După colorare, secţiunile trebuie deshidratate cu alcool şi apoi clarificate.

Deshidratarea în 4 băi succesive de alcool: I—70° ; II—80° ; III—96° şi IV—alcool absolut.

Reactivi necesari

Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	500 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* . .	200 ml

Clarificarea, trecînd rapid în 2 băi de xilol sau toluol.

Reactivi necesari

Cod 16 974	*Xilolum (-thyophen) purum*	200 ml
	sau	
Cod 16 138	*Toluolum* p. a.	200 ml
	sau	
Cod 3 937	*Benzolum* D=0,879 p. a.	200 ml

Montarea : se pune o picătură de balsam de Canada pe lamelă, care se răstoarnă pe lamă, peste secţiune. Se apasă cu acul de disociat pentru a scoate bulele de aer sau se pune pe platina încălzitoare pentru a se întinde bine.

Reactivi necesari

Cod 3 732	*Balsamum canadense neutrale purum*	80 ml
	sau	
Cod 13 328	*Oleum cedri spissum pro optica purum*	80 ml

b) **Secţiuni la gheaţă sau celoidină**

În acest caz, deshidratarea se face pînă la alcool 95°.

— Se trece în xilol fenicat (xilol 3 volume plus acid fenic 1 volum).

— Clătire în xilol (sau creozot).

— Montare în balsam ca mai sus, după ce lama a fost ţinută înclinată un timp pentru a se scurge excesul pe o hîrtie de filtru.

Ractivi necesari

Deshidratare şi clarificare

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	0,01 g
	sau	
Cod 9 934	*Kreosotum purum*	250 ml
Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a. . . .	1 000 ml
Cod 16 974	*Xilolum (-thyophen) purum*	250 ml

Montare

Cod 3 732	*Balsamum canadense neutrale purum*	80 ml
	sau	
Cod 13 328	*Oleum cedri spissum pro optica purum*	80 ml

Scanned with OKEN Scanner

2. Montarea în lichide miscibile cu apa

Natura lichidelor

— glicerină şi glicerină gelatinată ;
— sirop Apathy ;
— gelatină.

Tehnica montării. Pentru secţiunile colorate cu Sudan III sau Scharlach R, acestea neputînd fi deshidratate, ca să nu se dizolve grăsimile în alcool, montarea lor se face astfel:

— se pune, peste secţiunile scoase din apă şi întinse pe lamelă, 1 picătură de glicerină, sirop Apathy, glicerina gelatinată sau gelatină ;
— se acoperă cu lamelă ;
— se parafinează marginile (numai la glicerină, glicerină gelatinată) ; montarea în glicerină se face pe lamă la cald.

Reactivi necesari

Cod	8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	100 ml

C. Prepararea lichidelor

a) **Gelatină.** Gelatină 20 g topită în 100 ml apă distilată la etuvă (56°), unde se lasă 48 de ore. Se amestecă apoi bine şi se filtrează la aceeaşi temperatură, lăsîndu-se 12—24 de ore. Se adaugă apoi cîteva cristale de timol, acid salicilic sau 5 ml formol comercial. Înainte de întrebuinţare se încălzeşte la etuvă.

Reactivi necesari

Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	5 ml
Cod	8 041	*Gelatina alba pulvis purum*	20 g

b) **Gelatină-glicerină** Gelatină 7 g, apă distilată 42 ml, glicerină 50 ml, acid fenic 1 g.

Reactivi necesari

Cod	581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	2 g
Cod	8 041	*Gelatina alba pulvis purum*	14 g
Cod	8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	100 g

c) **Sirop Apathy.** Gumă arabică 50 g+30 ml apă distilată ; zahăr 50 g+20 ml apă distilată. Se dizolvă fiecare separat. Se amestecă apoi şi se filtrează, adăugîndu-se cîteva cristale de timol sau formol 1%.

Reactivi necesari

Cod	8 271	*Gummi arabicum pulvis purum* . . .	100 g
		Formaldehydum soluţie 1%	4 ml
		Sachar pulvis	100 g

Scanned with OKEN Scanner

V. COLORAȚII UZUALE

A. COLORAȚII COMBINATE

a) Coloraţia hemalaun-eozină

Prepararea soluţiilor

Hemalaun Mayer acidulat. Se dizolvă la cald, în 1 000 ml apă distilată, 75 g alaun de potasiu pulverizat ; se filtrează şi i se adaugă 1,50 g hematoxilină cristalizată (după ce a fost pulverizată în mojar) şi 0,30 g iodat de sodiu (în lipsă, 4 g perborat de sodiu). Iodatul se dizolvă înainte în puţină apă. Iodatul de sodiu fiind un oxidant, va transforma imediat hematoxilina în hemateină, schimbînd culoarea soluţiei. Se lasă la maturat 3—4 zile.

Pentru a obţine un *hemalaun acid*, se mai adaugă : 50 g hidrat de cloral şi 1 g acid citric. Acesta colorează mai bine nucleii.

— O altă metodă de pregătire a hemalaunului se face adăugînd la soluţia de alaun de potasiu filtrată (obţinută ca mai sus) 10 ml soluţie alcoolică de hematoxilină 10% în alcool 95° (soluţie mamă). Se adaugă apoi 0,30 g iodat de sodiu. Se lasă la maturat 3 zile.

Soluţia mamă de hematoxilină se obţine dizolvînd 10 g de hematoxilină în 100 ml alcool 95°.

La întrebuinţare, se iau 100 ml hemalaun pregătit astfel la care se adaugă 0,5 ml acid acetic. Înainte se filtrează.

Soluţia de eozină. Se fierbe într-un balon pînă la dizolvare cîte 1 g din : eozină alcoolică (eosinblau) şi eozină apoasă (eosingelb) în 100 ml alcool 70° ; se adaugă apoi, tot la cald, 0,25 g oranj G, iar după ce s-a dizolvat se mai adaugă 1 ml acid acetic officinalis (sau acid acetic glacial). Fierberea se va face la flacără mică, pentru a nu evapora alcoolul.

Se lasă să se răcească ; după răcire se adaugă 20 ml soluţie apoasă saturată la carbonat de litiu. Se filtrează înainte de colorare.

Oranj G joacă rol de colorant şi diferenţiator pentru eozină, dînd nuanţe deosebite.

Soluţia saturată de carbonat de litiu. Se dizolvă 15 g carbonat de litiu la 100 ml apă de robinet.

Se foloseşte la alcalinizarea apei, adăugînd 1—3 picături la un pahar, cu scopul de a vira hematoxilina, albăstrind-o, nucleii devenind coloraţi cafeniu-violet.

Se poate întrebuinţa şi *hemateina alaunată,* în loc de hematoxilină alaunată. Se prepară din 2 soluţii :

Soluţia A : hemateină 1 g în alcool absolut 50 ml ;

Soluţia B : se dizolvă la cald 50 g alaun de potasiu în 100 ml apă distilată. Se amestecă imediat cu soluţia A, se lasă să se răcească. Se filtrează.

Tehnică. Secţiunile pregătite pentru colorare sînt ţinute cîteva minute în apă, după care se trec succesiv în :

— hemalaun Mayer acidulat timp de 10 minute ;

— spălare în apă de robinet ;

— virare în apă cu carbonat de litiu (3—4 picături la un pahar cu apă), pînă ce culoarea secţiunilor din violet devine albastră-neagră ;

— spălare în apă de robinet ;

— colorare cu eozină timp de 2—3 minute ;

— spălare abundentă cu apă de robinet, pentru eliminarea excesului de eozină apoasă;

— trecere în alcool etilic 90° pentru a scoate excesul de eozină alcoolică ;

Scanned with OKEN Scanner

— deshidratare în băi de alcool (95° şi absolut) ;
— clarificare în xilol fenicat, apoi în xilol ;
— montare în balsam de Canada.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 1 000 de lame cu secţiuni)

Cod	136	*Acidum aceticum anhydricum* p. a. .	10 ml
		sau	
		Acidum hydrochloricum officinalis . .	10 ml
		sau	
Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . . .	10 ml
Cod	691	*Acidum citricum cryst.* p. a.	1 g
Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutum purum* .	50 ml
Cod	5 505	*Chloratum hydricum* p. a.	50 g
Cod	9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. .	75 g
Cod	10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a. . . .	22,50 g
Cod	12 055	*Natrium jodicum* p. a.	0,30 g
Cod	19 435	*Eosin blau spiritus solubile* . . .	7 g
Cod	19 439	*Eosin gelb aqua solubile Y.S.*	7 g
		sau	
Cod	19 415	*Hematoxylinum purum*	1,50 g
Cod	19 768	*Hemateinum purum*	1 g
Cod	20 378	*Orange G.*	1,55 g
		Alcohol aethylicus 70°	700 ml

b) Coloraţia cu hematoxilină Weigert-eozină

Este o metodă mai electivă, înlocuindu-se hemalaunul cu hematoxilină Weigert.

Prepararea soluţiilor

Hematoxilină Weigert (soluţie Weigert I). Se dizolvă, în 100 ml alcool etilic 95°, 1 g hematoxilină cristalizată (sau 10 ml soluţie mamă hematoxilină alcoolică 10% + 90 ml alcool 95°).

Soluţie perclorură de fier (soluţia Weigert II). Este mordant. Se amestecă : 4 ml soluţie oficinală de perclorură de fier (soluţie apoasă 29%) în 95 ml apă şi 1 ml acid clorhidric oficinal (sau acid clorhidric pur).

Soluţiile se păstrează în sticle separate.

Se amestecă în momentul colorării, luînd părţi egale din fiecare şi turnînd soluţia II peste soluţia I. Amestecul se poate folosi numai 24 de ore. El are culoare neagră.

Celelalte soluţii, ca mai sus.

Tehnica colorării. Secţiunile la parafină, preparate pentru colorare, se tratează astfel :

— se toarnă peste lamele cu secţiuni amestec Weigert, făcut proaspăt ; se ţine 10 minute ;
— se varsă colorantul de pe lame şi se spală cu apă distilată ;
— se diferenţiază, cufundînd lamele de 2—3 ori în pahar cu alcool clorhidric (sub controlul microscopului), pînă cînd culoarea preparatelor din albastră-violacee devine cafenie ;

Scanned with OKEN Scanner

— spălare cu apă ;
— virare în apă cu carbonat de litiu pînă la colorarea neagră ;
— spălare cu apă distilată ;
— colorare cu eozină 2—3 minute ;
— spălare cu apă ;
— trecere în alcool 90°, pentru a elimina excesul de eozină ;
— deshidratare cu alcool (95° şi absolut) ;
— clarificare în xilol fenicat, apoi xilol ;
— montare în balsam de Canada.

Notă. Diferenţierea în alcool clorhidric se opreşte în momentul cînd culoarea secţiunilor din violet-negru devine cenuşie; se cufundă în apă. Dacă la microscop nucleii nu sînt vizibili, diferenţierea este insuficientă şi se va continua. Dacă nucleii sînt palizi — diferenţiere excesivă, se va recolora lama.

Pentru secţiunile făcute la gheaţă tehnica este mult mai simplă :
— colorare cu hematoxilină ferică (amestec Weigert) 2 minute ;
— spălare cu apă ;
— colorare în eozină $^1/_2$ minut ;
— spălare în apă ;
— deshidratare cu alcool 95° ;
— clarificare în creozot ;
— montare în balsam de Canada.

Rezultate. Hematoxilina colorează nucleii în albastru-închis sau negru ; eozina colorează protoplasma în roz-roşu.

Reactivi necesari (pentru 200 de lame)

Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	400 ml
Cod 19 435	*Eosin blau spiritus solubile*	2 g
Cod 19 439	*Eosin gelb aqua solubile Y.S.*	2 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	1 g
Cod 20 378	*Orange G.*	0,50 g
	Perclorură de fier soluţie 29% . . .	4 ml
	Alcohol aethylicus 70°	200 ml
	Acid hydrochloricum officinalis . . .	2 ml
	Lithium carbonicum soluţie saturată apoasă	10 ml

c) Coloraţii tricromice

Metoda de colorare van Gieson (pentru ţesut conjunctiv) se aplică după toate fixările şi pentru orice incluziune. Este o coloraţie tricromă.

Prepararea soluţiilor

1. *Picrofucsina* se prepară din 2 soluţii :

— *soluţia I :* soluţie apoasă saturată de acid picric ; se dizolvă la cald în 100 ml apă distilată, 4 g acid picric ;

— *soluţia a II-a :* soluţie fucsină acidă ; se dizolvă în 100 ml apă distilată 1 g fucsină acidă triturată în mojar.

Înainte de colorare se amestecă : 10 părți soluție I cu 1 parte soluție II. Se filtrează.

2. Hemalaun Mayer sau hematoxilină Weigert (ca mai sus). Proporția de hematoxilină Weigert poate fi aici de : 2 părți colorant și 1 parte mordant, pentru a da o colorare mai intensă și mai rapidă.

3. Apă acidulată : 1 ml acid acetic la 500 ml apă.

Tehnica de colorare :

— secțiunile la gheață, celoidină sau gelatină, din apă sînt trecute pentru colorare în hematoxilină Mayer acidulată (deoarece ele nu pot fi diferențiate), iar secțiunile la parafină se colorează cu hematoxilină Weigert, timp de 10—15 minute (pentru colorarea bună a nucleilor) ;

— spălare în apă, timp de 10 minute ;

— diferențiere în alcool clorhidric (numai secțiunile la parafină) ;

— virare în apă cu carbonat de litiu pînă la înnegrirea nucleilor ;

— spălare în apă ;

— colorare în picrofucsină timp de 1 minut (atenție la tendința de supracolorare a protoplasmei) ;

— spălare în apă acidulată ;

— spălare abundentă cu apă distilată ;

— deshidratare în alcool (95° și absolut) ;

— clarificare în xilol ;

— montare în balsam de Canada.

Rezultate. Fibrele conjunctive se colorează în roșu ; nucleii, în negru-violet ; citoplasma, în galben.

Notă. Se poate încerca cu roșu de tiazină-acid picric, care reduce fucsina după o perioadă de 6—12 luni, înlocuind astfel picrofucsina cu *picrotiazină* (200 ml apă distilată, 90 ml soluție apoasă roșu tiazină 5%, 10 ml soluție apoasă saturată de acid picric și 30 ml alcool 95°).

Tehnica este aceeași ca mai sus pînă la spălarea cu apă, după care urmează :

— colorare cu picrotiazină pînă ce colagenul devine roșu puternic ;

— spălare rapidă în apă distilată ;

— eliminarea excesului de acid picric cu alcool 90° ;

— deshidratare în alcooluri (95° și absolut) ;

— montare în balsam de Canada.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secțiuni)

Cod 136	*Acidum aceticum anhydricum* p. a. . .	1 ml
Cod 926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.*, D=1,19 p. a.	2 ml
Cod 1 397	*Acidum picricum* p. a.	40 g
Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	300 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	10 ml
Cod 9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. .	7,5 g
Cod 10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a. . . .	15 g
Cod 12 055	*Natrium iodicum* p. a.	0,03 g
Cod 18 632	*Acidum rubin* (Fuchsin S)	1 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	2 g
	Perclorură de fier soluție 29% . . .	4 ml

Scanned with OKEN Scanner

Coloraţia van Gieson, modificată de Hansen

Tehnică :

— colorarea nucleilor în trioxihemateină, timp de 3 minute.

Soluţia A : se dizolvă la rece în 150 ml apă distilată, triturînd în mojar : 10 g alaun de fier, 1,40 g sulfat de amoniu.

Soluţia B : se dizolvă la cald în 75 ml apă distilată, 1,60 g hematoxilină cristalizată. Se lasă să se răcească. Se varsă soluţia B în soluţia A *(nu invers !)*. Se fierbe în balon pirex 1—2 minute şi se răceşte brusc. Conservarea mai multe luni. Se filtrează înainte de colorare ;

— spălare în apă distilată, apoi în apă de conductă timp de 10 minute ;

— colorare în picrofucsină acidulată, 5 minute (la 100 ml picrofucsină se adaugă 2 picături de acid acetic 2%) ;

— se trece 2—4 secunde *(nu mai mult !)* în picrofucsină diluată (la 2,5 ml soluţie picrofucsină acidulată se adaugă 60 ml apă distilată) ;

— uscare pe hîrtie de filtru ;
— alcool 90° I, timp de 1 minut ;
— alcool 95° II, 1—2 minute ;
— alcool absolut I, 2 minute ;
— alcool absolut II, 3 minute ;
— xilol, balsam de Canada.

Rezultate. Colagenul se colorează în roşu-viu ; muşchiul, în galben-viu ; nucleii, în brun-negru.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 200 de secţiuni)

Cod 1 397	*Acidum picricum* p. a.	8 g
Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	200 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	200 ml
Cod 3 103 +)	*Ammonium sulfuricum* pt. a.	1,40 g
Cod 7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.	10 g
Cod 18 632	*Acidum rubin* (Fuchsin S)	0,25 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	1,60 g
	Acidum aceticum soluţie 2%	IV picături

Coloraţia tricromică Masson

Se aplică după toate fixările, în special după Susa. Oferă detalii de contrast, punînd în evidenţă bine colagenul. Secţiuni numai la parafină. Există mai multe variante.

Prepararea soluţiilor

1. *Soluţia Ponceau R.* (roşu Ponceau) sau Ponceau-xilidină. Se dizolvă la cald, în 300 ml apă distilată ; 2 g Ponceau R şi 1 g fucsină acidă ; după dizolvare se adaugă 4 ml acid acetic. Se filtrează înainte de colorare. Colorează fondul (citoplasma în roz-violaceu ; hematiile, în portocaliu).

Scanned with OKEN Scanner

2. *Soluția acid fosfomolibdenic* (mordant și diferențiator). Se dizolvă 1 g acid fosfomolibdenic în 100 ml apă distilată. Se filtrează înainte de utilizare.

3. *Soluția albastru anilină-oranj G.* Se dizolvă în 100 ml apă distilată, 0,5 g albastru de anilină hidrosolubil și 2 g oranj G. Se adaugă apoi, după dizolvare, 2,5 ml acid acetic. Se filtrează înainte de utilizare.

Albastrul de anilină colorează fibrele conjunctive ; oranjul G colorează fondul și sîngele.

4. *Apă acidulată* 1/500, hematoxilina Weigert, alcool clorhidric, soluția de carbonat de litiu — se prepară ca mai sus.

Principii : timpul 1 : se colorează nucleii cu hematoxilină ferică, urmată de diferențiere ;

timpul 2 : colorația citoplasmei cu Ponceau R și diferențierea cu acid fosfomolibdic ;

timpul 3 : colorarea colagenului cu albastru de anilină și oranj G.

Tehnică :

— secțiunile din apă se colorează pe lama cu hematoxilină ferică Weigert, timp de 15—20 minute ;
— spălare cu apă distilată ;
— diferențiere cu alcool clorhidric ;
— spălare cu apă ;
— virare în apă cu carbonat de litiu ;
— spălare în apă ;
— colorare cu Ponceau R-fucsină, timp de 10 minute ;
— spălare abundentă cu apă de conductă ;
— acoperirea lamelor cu soluție acid fosfomolibdenic 1%, timp de 3—4 minute ;
— fără spălare, se trece în albastru anilină-oranj G, timp de 1—2 minute (sub control microscopic) ;
— spălare cu apă ;
— diferențiere în apă acidulată 1/500, timp de 3—5 minute (sub control microscopic, pentru a nu se decolora nucleii, fibrele conjunctive apărînd albastre) ;
— spălare cu apă distilată ;
— deshidratare în alcooluri (96° și absolut) ;
— montare în balsam de Canada.

Rezultate. Nucleii apar în cenușiu-roșcat ; citoplasma, în roz-violaceu ; hematiile, în portocaliu ; țesutul conjunctiv, în albastru ; țesutul muscular, în roșiatic ; mucusul, în roz-pal ; amiloidul, în violet-deschis.

Notă. Există variante care întrebuințează fucsina în locul soluției de albastru anilină-oranj G, cu sau fără Ponceau R, fie verde de lumină în soluție acetică.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 300 de lame cu secțiuni)

Cod	136	*Acidum aceticum anhydricum* p. a. . .	13 ml
Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum* (-As.) D=1,19, p. a.	6 ml
Cod	1 353	*Acidum phosphomolibdaenicum* p. a. .	3 g
Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	300 ml
Cod	10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a. . . .	15 g
Cod	18 632	*Acidum rubin (Fuchsin S)*	1 g

Cod 18 754	*Anilin blau aqua solubile*	1,50 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	3 g
Cod 20 378	*Orange G*	6 g
Cod 20 550	*Ponceau 4 R*	2 g
	Periclorură de fier soluție 29% . . .	12 ml
	Alcohol aethylicus 90°	300 ml

Coloraţia policromă (N. Simionescu)

Metoda este simplă şi practică, care se poate asocia sau completa şi cu alte metode.

Prepararea soluţiilor

Galben metanil 0,25% . . . . . 20 ml
Acid fosfowolframic 5% . . . . . 20 ml

Cînd culoarea virează în vişiniu, se adaugă:

Xilidină (Ponceau) 1% . . . . . 30 ml
Albastru de metil 1% . . . . . 30 ml
Acid acetic glacial . . . . . 10 ml

Soluţia poate fi păstrată cîteva luni.

Tehnică:

— secţiuni la parafină (după orice fixare, în special după fixare în Bouin-Hollande) sînt colorate direct în amestecul policrom timp de 8 minute (frotiurile 2 minute);

— diferenţiere pe lamă cu apă acidulată 1/500, apoi în alcool;

— deshidratare, clarificare, montare în balsam de Canada.

Rezultate. Nucleii se colorează în roşu; ţesutul conjunctiv precolagen, în albastru; colagenul, în portocaliu; ţesutul muscular, în cărămiziu; hematiile, în galben; celulele acidofile, în roşu; celulele bazofile, în albastru sau violet; mucusul, în albastru; coloidul tiroidian, în albastru şi roşu (în raport cu starea sa fizico-chimică); granulaţiile intracitoplasmatice sînt colorate, după proprietăţile lor, în galben, albastru sau roşu.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 400 de secţiuni)

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	50 ml
Cod 1 379	*Acidum phosphotungsticum* p. a. . . .	5 g
Cod 20 064	*Methanyl gelb*	0,25 g
Cod 20 068	*Methyl blau*	1,50 g
Cod 20 550	*Ponceau 4 R*	1,50 g

B. METODE ELECTIVE DE COLORARE

COLORAŢII HISTOLOGICE PENTRU STRUCTURI TISULARE SAU ORGANE

1. FIBRE CONJUNCTIVE PROPRIU-ZISE (colagen)

Evoluţia fibrelor prezintă, în funcţie de stadiul în care se găseşte şi de pH-ul corespunzător, afinităţi pentru coloranţii care le dau proprietăţi *argentafile* (pH neutru), *acidofile*, colorîndu-se cu coloranţi anilinici (pH=4) sau fucsinofile (pH=1).

Scanned with OKEN Scanner

Fibrele conjunctive se pun în evidenţă, cum s-a văzut mai sus, prin metodele van Gieson, Hansen, tricrom Masson.

În afară de acestea, se mai pot întrebuinţa şi alte metode de colorare.

a) Coloraţia cu Kernechtrot

Este o metodă bună şi rapidă, care dă rezultate bune nu numai în colorarea fibrilelor, dar şi în ţesutul elastic, în studierea nucleilor, cercetarea fierului etc.

Prepararea soluţiilor

Soluţia de Kernechtrot. Se dizolvă la cald 0,1 g Kernechtrot în 100 ml soluţie apoasă 5% sulfat de aluminiu. După răcire, se filtrează.

Mordant. Acid fosfomolibdenic 1%, 100 ml.

Colorant de fond. Soluţie albastru de anilină — Orange G (Mallory).

Albastru de anilină hidrosolubilă 0,5 g, Orange G 2 g, acid oxalic 2 g, dizolvate în 100 ml apă distilată.

Notă. Albastru de anilină=anilinblau, bleu de methyl, bleu lumière, bleu de Chine, bleu à l'eau, bleu cotton.

Tehnică :

— din apă, secţiunile sînt trecute în colorant pentru nuclei, timp de 10—15 minute;
— spălare abundentă în apă distilată ;
— mordansare în acid fosfomolibdenic, timp de 5 minute ;
— spălare în apă distilată ;
— colorarea fondului cu albastru-anilină, timp de 5 minute ;
— spălare în apă alcool ;
— deshidratare în alcool ;
— clarificare în xilol ;
— montare în balsam de Canada.

Rezultate. Fibrele colagene se colorează în albastru ; cromatina, eritrocitele, fibrele gliale, în roşu ; granulaţiile celulare, în galben, roşu sau albastru ; muşchii, în roşu-portocaliu.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 1 251 +)	*Acidum oxalicum cryst.* p. a.	2 g
Cod 2 747 +)	*Aluminium sulfuricum* pt. a.	5 g
Cod 18 754	*Anilin blau aqua solubile*	0,5 g
Cod 19 857	*Kernecht rot pro mikroskopie*	0,1 g
Cod 20 378	*Orange G*	2 g
	Acidum phosphomolibdaenicum soluţie 1%	100 ml

b) Coloraţia cu carmalaun Mayer

Este o tehnică asemănătoare cu precedenta, mult mai simplă.

Prepararea soluţiilor

— *soluţie carmalaun Mayer.* Se dizolvă la cald, în 200 ml apă distilată, 10 g carmin acid şi 10 g alaun de potasiu. Se lasă să se răcească, se filtrează şi se adaugă 1 ml formol 40% sau 0,2 g acid salicilic ;
— soluţie apoasă alaun de potasiu 1% 100 ml.

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică. Din apă distilată, secţiunile se trec în :
— soluţie carmalaun, timp de 15 minute ;
— se spală în apă distilată ;
— trecere în soluţie alaun 1%, 2—3 secunde (sub controlul microscopului) ;
— spălare abundentă cu apă ;
— deshidratare ; apoi în xilol ;
— montare în balsam de Canada.

Notă. Colorarea fondului se face cu soluţie de albastru anilină-Oranj G (Mallory).

Reactivi necesari (pentru colorarea a 200 de lame cu secţiuni)

Cod 1 454 +)	*Acidum salicilicum* p. a.	0,2 g
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	1 ml
Cod 9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. .	12 g
Cod 19 072	*Carminum*	10 g
	sau	
Cod 19 067	*Carminum Mayer*	10 g
	Kalium aluminium sulfuricum soluţie apoasă	100 ml

c) **Coloraţia van Gieson-galben metanil (Masson)**

Prepararea soluţiilor

— soluţie hematoxilină ferică Weigert (vezi pag. 338) ;
— soluţie galben metanil : galben metanil 1 g, acid acetic cristalizat 1 ml, apă distilată 200 ml ;
— apă acetică (1 g la 500 ml apă distilată) ;
— soluţie 3% bicromat de K ;
— soluţie fucsină picrică : 1 g fucsină acidă+soluţie saturată de acid picric 100 ml ;
— apă acetică : 1 ml acid acetic la 100 ml apă.

Tehnică :
— din apă, piesele sînt trecute în hematoxilină ferică, timp de 5 minute ;
— spălare în apă de conductă ;
— colorare în galben metanil, timp de 5 minute ;
— spălare în apă acetică (1 g la 500 ml apă distilată) ;
— mordansare în soluţie bicromat de K, 5 minute ;
— fără spălare, se colorează în fucsină picrică, timp de 2 minute ;
— spălare în apă distilată ;
— diferenţiere în apă acetică 1%, timp de 5 minute ;
— deshidratare în alcooluri;
— clarificare în xilol;
— montare în balsam de Canada.

Rezultate. Ca la van Gieson originală : cromatina se colorează în negru; citoplasma, în galben ; colagenul, în roşu ; fibrele elastice şi musculatura, în galben.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru colorarea a 200 de lame cu secţiuni)

Cod 136	*Acidum aceticum anhydricum* p. a. . .	4 ml
Cod 926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.*, D=1,19 p. a.	2 ml
Cod 1 397	*Acidum picricum* p. a.	8 g
Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . . .	200 ml
Cod 9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur	6 g
Cod 18 632	*Acidum rubin (Fuchsin S)*	2 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	2 g
Cod 20 064	*Methanyl gelb*	1 g
	Perclorură de fier soluţie 29% . . .	8 ml

d) **Coloraţia hematoxilină-picro-Ponceau**

Coloraţie simplă, cu rezultate bune.

Prepararea soluţiilor : hematoxilină ferică (vezi pag. 338) ; soluţie picro-Ponceua compusă din : soluţie apoasă 2% de Ponceau S extra 10 ml, soluţie apoasă saturată de acid picric 190 ml şi soluţie apoasă acid acetic 1% 50 picături.

Tehnică :

— coloraţie cu hematoxilină ferică, 5—10 minute ;
— spălare cu apă ;
— colorare cu soluţie picro-Ponceau, timp de 2 minute ;
— spălare cu apă ;
— deshidratare în alcool 95° şi absolut.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 200 de lame cu secţiuni)

Cod 926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.*, D=1,19 p. a.	2 ml
Cod 1 397	*Acidum picricum* p. a.	8 g
Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* p. a. . .	200 ml
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	2 g
Cod 20 554	*Ponceau S.*	0,2 g
	Acidum aceticum soluţie 1% p. a. . .	L de picături
	Perclorură de fier soluţie 29% . .	8 ml

e) **Colorarea cu amestecul Mallory**

Prepararea soluţiilor : fucsină acidă soluţie apoasă 0,5% ; soluţie apoasă 2% acid fosfomolibdenic ; amestec Mallory format din : albastru anilină 0,5 g, oranj G 2 g, acid oxalic 2 g, dizolvate în 100 ml apă distilată.

Tehnică :

— din apă, secţiunile trec în fucsină acidă 0,5%, timp de 10 minute ;
— spălare cîteva secunde în apă ;
— diferenţiere în soluţie acid fosfomolibdenic, timp de 2 minute ;
— spălare cu apă ;

Scanned with OKEN Scanner

— colorare în amestec Mallory, 5 minute ;
— spălare în apă, 5—10 minute ;
— deshidratare în alcool absolut ;
— clarificare cu xilol fenicat ;
— montare în balsam de Canada.

Rezultate. Țesutul conjunctiv apare în albastru ; nucleii și fibrele, în roșu.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secțiuni)

Cod 1 251 +)	*Acidum oxalicum cryst.* p. a.	2 g
Cod 18 632	*Acidum rubin (Fuchsin S)*	0,50 g
Cod 18 754	*Anilin blau aqua solubile*	0,50 g
Cod 20 378	*Orange G*	2 g
	Acidum phosphomolibdaenicum soluție 2% p. a.	100 ml

2. FIBRE ELASTICE

Țesutul elastic se găsește sub formă de fibre foarte fine, în diverse organe, alături de țesutul conjunctiv.

Metoda cu fucsină-rezorcină (fucselină Weigert)

Reactivul se prepară prin precipitarea soluției de rezorcină și fucsină cu perclorură de fier.

Prepararea soluțiilor

Soluția rezorcină-fucsină. Soluția A. Se dizolvă la cald, într-un flacon Ehrlenmeyer în 50 ml apă distilată, 0,5 g fucsină bazică și 1 g rezorcină p. a. În timp ce fierbe se prepară soluția B.

Soluția B. Se dizolvă 2 g de clorură de fier crist. p. a. în 10 ml apă distilată.

Cînd începe să fiarbă soluția *A*, se toarnă soluția *B* și se continuă fierberea încă 5 minute la flacără mică. Se lasă să se răcorească. Se filtrează printr-o pîlnie de hîrtie de filtru mică. Precipitatul negru (care rămîne pe hîrtia de filtru, tăiată în bucăți), se cufundă în 100 ml alcool 90° și se încălzește în *bain Marie* sau reșou electric. Precipitatul se dizolvă cu precauție, pînă fierbe. După răcire, se adaugă 0,70 ml acid clorhidric concentrat (D=1,19) sau 1 ml acid clorhidric oficinal. Filtrare. Soluția poate fi folosită pentru colorare timp de 1 lună.

Tehnică :

— secțiunile din apă se trec în alcool 80°, timp de 1 minut ;
— colorare cu fucsină Weigert, timp de *15—30 de minute ;*
— spălare în apă de conductă ;
— diferențiere în alcool 95° pînă la decolorarea fondului, rămînînd colorate numai fibrele elastice ;
— spălare în apă de conductă, apoi în apă distilată ;
— colorare 15 minute în Kernechtrot (vezi pag. 344) ; (timpul se poate suprima sau înlocui cu carmin-alaun sau van Gieson) ;

Scanned with OKEN Scanner

— spălare în apă ;
— deshidratare rapidă în alcool;
— clarificare în xilol;
— montare în balsam de Canada.

Rezultate. Fibrele elastice se colorează în negru ; nucleii, în roşu.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.*, D=1,19 p. a.	0,70 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	250 ml
Cod 2 747 +)	*Aluminium sulfuricum* pt. a.	5 g
Cod 7 646	*Ferrum chloratum oxydatum anhydricum* p. a.	2 g
Cod 14 730	*Resorcinum resublimatum* p. a. . . .	1 g
Cod 18 632	*Acidum rubin (Fuchsin S)*	0,50 g
Cod 19 857	*Kernecht rot pro mikroskopie* . . .	0,1 g

3. AMILOIDUL

a) **Reacţia cu iod.** Peste secţiunile deparafinate se pune soluţie Lugol ; se examinează în apă iodată.

Pe fond galben-pal, amiloidul ia o tentă brună-acaju, care virează spre albastru-violaceu dacă se tratează cu soluţie 1% de acid sulfuric.

Reactivi necesari (pentru 50 de lame)

Cod 10 384	*Lugolum solutio* p. a.	100 ml
Cod 10 385	*Lugolum solutio pro mikroskopie purum*	10 ml

b) **Reacţia metacromatică cu violet de metil** *. Fixarea pieselor în formol sau alcool absolut. Secţiuni la gheaţă sau parafină.

Soluţii :

1) violet de metil 1 g+apă distilată . . . . . 100 ml
2) soluţie saturată apoasă de alaun de potasiu . . 100 ml

Tehnică :

— colorarea secţiunilor în soluţie apoasă de violet metil 1%, timp de 10—15 minute ;

— spălare în apă distilată şi apoi diferenţiere în soluţie acid acetic 1% ;

— trecere timp de 10 minute în soluţie apoasă saturată de alaun de K (7%) îndoită cu apă ;

— montare în glicerină boraxată sau sirop Apathy.

Rezultate. Amiloidul apare colorat în roşu; restul în albastru.

---

* Se poate întrebuinţa, în loc de violet de metil, violet de genţiană.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de secţiuni)

Cod 9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. .	7 g
Cod 19 714	*Gentiana violet*	1 g

c) **Colorarea cu roşu de Congo.** Fixare în formol sau alcool.

Soluţii : roşu de Congo, soluţie apoasă 1% ; soluţie saturată apoasă carbonat de litiu.

Tehnică :

— secţiunile deparafinate se introduc în soluţia roşu de Congo, timp de 15—20 de minute;

— trecere în soluţia carbonat de litiu, 15 secunde ;

— diferenţiere în alcool 80% ;

— spălare în apă (opreşte diferenţierea) ;

— deshidratare, clarificare, montare.

Rezultate. Amiloidul apare colorat în roşu ; substanţa hialină şi coloidă rămîn necolorate.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de secţiuni)

Cod 10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a. . . .	15 g
Cod 19 162	*Congo rot*	1 g

d) **Colorarea cu tricromicul Masson.** Tehnica şi rezultatele sînt expuse mai sus (pag. 341). Amiloidul este colorat în violet deschis.

4. HIALINUL ŞI COLOIDUL

În afară de coloraţia Weigert pentru fibrină, în general se folosesc coloranţi acizi de anilină.

Metoda Russel

Reactivi : soluţia A (fucsină fenicată Ziehl)

Fucsină bazică	1 g
Alcool 95°	10 ml
Acid fenic (fenol)	5 g
Apă distilată	100 ml

Soluţia B

Iodgrün	1 g
Apă fenicată 5%	100 ml

Tehnică :

— din apă, secţiunile se trec 10—30 de minute în fucsină fenicată ;

— spălare cu apă de conductă 3—5 minute, apoi în alcool absolut timp de 30 de secunde — 1 minut ;

Scanned with OKEN Scanner

— diferențiere și apoi colorare 5 minute în iodgrün ;
— diferențiere rapidă în alcool absolut ;
— clarificare în xilol ; montare în balsam.

Rezultate. Nucleii apar colorați în verde-luminos ; substanța hialină, în roșu-aprins.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de secțiuni)

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	10 g
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	10 ml
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	1 g
Cod 19 852	*Iod grün*	1 g

5. NUCLEUL

a) Coloraţia cu hematoxilină ferică Heidenheim

Este un colorant care dă detalii structurale nucleare și celulare ușor de analizat cu mijloace optice obișnuite.

Piese fixate în formol neutru sau sublimat. Includere la parafină. Este necesar a stăpîni perfect tehnica de colorare.

Prepararea soluțiilor

— *Hematoxilină.* Soluție mamă : hematoxilină 10% în alcool 95°, maturată 2—3 săptămîni. Pentru colorare se prepară din ea soluție 1% (la 10 ml soluție se adaugă 90 ml apă distilată).

— *Mordantul.* Alaun de fier și amoniu (cristale violete) 3 g dizolvate în 100 ml apă distilată. Se prepară înainte de colorare.

— *Diferențiator.* Soluție apoasă 1% de alaun de fier și amoniu.

Tehnică. Secțiunile deparafinate și hidratate, din apă distilată se trec succesiv în :

— Mordansare cu alaun de fier și amoniu, timp de 3—10 ore, la rece, sau $^1/_2$ oră — 6 ore la 50°. Pentru obținerea de detalii celulare se va prelungi pînă la 24 de ore.

— Spălare în apă distilată.

— Colorare în hematoxilină, timp de 30 de minute (pentru colorarea nucleilor) și pînă la 24 de ore pentru elementele structurale celulare (secțiunile, în raport cu timpul de colorare, variază de la albastru la negru).

— Spălare rapidă în apă distilată.

— Diferențiere în soluție alaun de fier și amoniu 1% (soluție separată de cea întrebuințată ca mordant), sub controlul microscopului, putînd fi oprită prin spălare în apă (decolorarea începînd cu colagenul, citoplasma, incluziunile citoplasmatice, cromatina). Cînd diferențierea (decolorarea) este completă, se va recolora cu hematoxilină.

— Spălare abundentă cu apă distilată.

— Deshidratare în alcooluri (95° și absolut).

— Montare în balsam de Canada.

Notă. După punctul 6 se va putea face o colorare în fond.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultate. Nucleii şi centrozomii se colorează în negru ; protoplasma, în cenuşiu-deschis sau incolor ; colagenul şi fibrilele conjunctive rămîn incolore.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	10 ml
Cod 7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.	4 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	1 g

b) **Coloraţia în carmin-alaun (Grenacher)**

Metoda dă o colorație clară a nucleilor.

Prepararea soluţiilor. Soluţia de carmin cu alaun (Grenacher) : 4 g alaun de potasiu dizolvat în 100 ml apă distilată ; după dizolvare se adaugă 2 g carmin. Se fierbe 20—30 de minute, se răceşte şi se filtrează. Se adaugă 1 ml formol sau cristale de timol.

Tehnică :

1) din apă, secţiunile se trec în soluţie de carmin-alaun, timp de 5—10 minute ;

2) se spală bine cu apă distilată pînă nu mai iese colorant din secţiune ;

3) deshidratare în alcool 95° ;

4) clarificare în xilol fenicat, apoi în xilol ;

5) montare în balsam de Canada.

Rezultate. Nucleii se colorează în roşu.

Notă. Secţiunile trebuie bine hidratate înainte de colorare, pentru a nu conţine urme de alcool.

Secţiunile colorate durează numai cîteva luni.

Reactivi (necesari) pentru colorarea a 150 de lame cu secţiuni)

Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	1 ml
Cod 9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. . .	4 g
Cod 19 072	*Carminum*	2 g
	sau	
Cod 19 053	*Carminum alaun Grenacher*	2 g

6. PROTOPLASMA CELULARĂ

Metoda cu hematoxilină Regaud (pentru mitocondrii).

Coloraţia se aplică cercetărilor pe ţesuturi foarte proaspete, mitocondriile dispărînd rapid după moarte.

Incluzionarea, în aceste cazuri, se face astfel :

— piesele fixate în formol sau Zenker-formol neutru sau bicromat-formol (Regaud), timp de 12—24 de ore ; fragmente mici de 2—3 mm ;

— fără spălare, piesele se trec în soluţie apoasă 3% de bicromat de potasiu, în care se ţin 6—30 de zile ;

Scanned with OKEN Scanner

— spălare în apă de conductă 24 de ore ;
— deshidratare în 3 băi succesive de alcool absolut, în fiecare cîte 3 ore :
— clarificare în 3 băi de toluol, cîte 2 ore ;
— baie de parafină 12—24 de ore ; incluziune, secţionare fină, lipire pe lamă.

Prepararea soluţiilor

Hematoxilină Regaud :

Hematoxilină	1 g
Alcool absolut	10 ml
Glicerină	10 g
Apă distilată	80 ml

Se dizolvă hematoxilina în apă distilată caldă ; se răceşte ; se adaugă alcool absolut şi glicerină. Se lasă cîteva zile pentru a fi oxidată. La început soluţia este galbenă, iar la sfîrşitul oxidării se va înnegri.

— Soluţie apoasă alaun de fier 5% (mordant).
— Diferenţiator : soluţie apoasă 1% alaun de fier.
— Soluţie eozină (vezi pag. 337).

Tehnică :

— mordansarea secţiunilor în soluţie alaun de fier 5%, timp de 24 de ore ;
— colorare în hematoxilină Regaud, timp de 24—48 de ore ;
— diferenţiere lentă în soluţie apoasă 1% alaun de fier (sub controlul microscopic) ;
— spălare în apă, timp de 15 minute ;
— colorarea fondului cu soluţie eozină ;
— spălare în apă ;
— deshidratare în alcool (96° şi absolut) ;
— clarificare în xilol ;
— montare în balsam de Canada.

Rezultatele variază în raport cu durata băii de cromat, de unde necesitatea de a se colora fragmentele eşalonat.

Mitocondriile apar negre, ca şi picăturile de grăsime, restul rămîne incolor sau cenuşiu.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum*	1 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum*	10 ml
Cod 7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.	6 g
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	10 g
Cod 10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a.	0,30 g
Cod 19 435	*Eosin blau spiritus solubile*	1 g
Cod 19 439	*Eosin gelb aqua solubile*	1 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	1 g
Cod 20 378	*Orange G.*	0,25 g
	Alcohol aethylicus 70°	100 ml

Scanned with OKEN Scanner

a) Coloraţia cu mucicarmin (Mayer)

Se foloseşte după toate fixările. Secţiunile se fac la parafină.

Prepararea soluţiilor. *Mucicarmin Mayer.* Se încălzeşte la flacără mică, într-o capsulă de porţelan, timp de 2 minute: carmin 1 g, clorură de aluminiu sic. şi alb 0,5 g şi apă distilată 2 ml, care devine siropos şi de culoare roşie-închisă, aproape neagră. Se aruncă capsula cu conţinutul ei într-un recipient care conţine 100 ml alcool 50° şi se lasă 24 de ore. Se filtrează. Pentru colorare se adaugă, la o picătură din această „soluţie mamă", 10 picături apă distilată.

— *Soluţia cu galben-metanil.* La 0,05 g galben-metanil se adaugă 100 ml apă distilată şi 0,02 ml acid acetic.

Tehnică:

— Secţiunile deparafinate se colorează cu hemalaun, 15—20 de minute (vezi pag. 337);
— Spălare cu apă (eventual trecere înainte în apă litinată);
— Colorare 5 minute în soluţie galben-metanil (secţiunile devin galbene-brune);
— Se spală în apă distilată;
— Colorare 1—3 ore (uneori chiar 3—6 ore) în soluţie mucicarmin;
— Spălare în apă distilată;
— Deshidratare în alcool 95° şi absolut;
— Clarificare în xilol; montare în balsam.

Rezultate. Mucusul celulelor intestinale se colorează în roşu-violaceu închis; mucusul celulelor gastrice rămîne incolor; citoplasma, ţesutul conjunctiv, în galben; nucleul, în albastru închis; substanţa cartilaginoasă, în roşu-violaceu.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	0,02 g
Cod 2 635 +)	*Aluminium chloratum cryst.* pt. a. . .	0,5 g
Cod 19 072	*Carminum*	1 g
Cod 20 064	*Methanyl gelb*	0,05 g
	Alcohol aethylicus 50°	50 ml

b) Coloraţia cu tionină Hoyer

Dezavantaj: Colorează la fel şi amiloidul.

Reactivi:

Soluţia *A*

sublimat	5 g
apă distilată	100 ml

Soluţia *B*

soluţie saturată de tionină la cald în apă .	XI picături
apă distilată	5 ml

Tehnică:

Se trec secţiunile 5 minute în soluţia *A*; se spală cu apă de conductă; colorare 5—15 minute în soluţia *B*; se spală în alcool 95°, apoi în alcool absolut; clarificare în xilol; montare în ulei de cedru.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultate. Mucusul și substanța amiloidă se colorează în roșu ; nucleii, în albastru.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secțiuni)

Cod 8 715 A *Hydrargyrum bichloratum cryst.* pur . . . 5 g
Thionin (lauts violet) soluție saturată XI picături

c) Coloraţia metacromatică cu albastru de toluidină

Tehnică. Secțiunile la gheață, celoidină sau parafină, se trec în soluție de *albastru-toluidină* 1%, timp de 1 minut ; spălare cu apă ; deshidratare rapidă în alcool 95° și absolut ; clarificare cu xilol ; montare în balsam.

Rezultate. Mucusul se colorează în roșu ; modificările neoplazice sau inflamatoare ale substanței fundamentale a țesutului conjunctiv, în violet-roșu ; restul preparatului apare colorat ortocromatic în albastru.

Reactivi necesari (pentru 100 de secțiuni)

Cod 20 872 *Toluidin blau* . . . . . 1 g

8. PRODUSE DE DEPOZIT

a) Coloraţia grăsimilor neutre

Fixarea pieselor se face în fixatori sau amestecuri fixatoare care nu dizolvă grăsimea. Se recomandă de obicei formol în concentrație de 10—15%. De asemenea se mai pot întrebuința soluțiile Müller, Helly, Regaud, Fleming. Piesele se vor spăla bine de formol după fixare.

Secționarea se va face la congelare sau includere la gelatină.

Coloraţia cu Sudan III (Scharlach R)

Prepararea soluțiilor

— Soluția de *Sudan III* (în amestec) : se dizolvă la cald, în 100 ml alcool 70°, 0,2—0,3 g Sudan III. Se introduce apoi la etuvă de 56°, timp de cîteva ore, într-un flacon bine închis. Se răcește, apoi se filtrează. Se poate păstra 1 an. Înainte de fiecare întrebuințare se filtrează ;

— *Hemalaun Mayer acidulat* (a se vedea mai sus) ;

— *Soluția Scharlach R* se prepară la rece, dizolvînd 0,2—0,3 g Scharlach R într-un amestec de alcool 70° și acetonă, cîte 50 ml. Se agită bine înainte de întrebuințare, pentru a dizolva cristalele care se formează și se filtrează. Se păstrează în sticle cu dop rodat. Se poate păstra 1—2 ani.

Tehnică. Secțiunile, fixate în formol sau Bouin, se spală în apă distilată ; din apă se trec rapid în alcool 70° ; se colorează, trecîndu-se în soluția de Sudan III (sau Scharlach R), unde se țin 20—30 de minute, cristalizoarele fiind bine acoperite (pentru a nu se evapora alcoolul din soluție) ; diferențiere rapidă în alcool 70° ; spălare bine în apă de con-

Scanned with OKEN Scanner

ductă ; trecerea secţiunilor în hemalaun Mayer acidulat timp de 5 minute (pentru colorarea nucleilor) ; virarea în carbonat de litiu (nu este obligatorie) ; spălare în apă ; montare în glicerină, gelatină sau sirop Apathy.

Rezultate. Nucleii se colorează în albastru-violet, iar grăsimile neutre se colorează în roşu-viu cu Scharlach R, respectiv în roşu-portocaliu cu Sudan III.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de secţiuni)

Cod 9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. .	75 g
Cod 12 055	*Natrium iodicum* p. a.	0,30 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	1,50 g
Cod 20 716	*Scharlach R*	0,30 g
	sau	
Cood 20 756	*Sudan III*	0,30 g
	Alcohol aethylicus 70°	100 ml

Coloraţia cu albastru de Nil (Nilblau)

Necesită ca piesele să fie recent fixate în formol (nu colorează piesele vechi). Secţiuni numai la congelare sau gelatină. Colorează grăsimile, ca şi acizii graşi, colorînd în acelaşi timp şi nucleii (deci simplifică tehnica). Dezavantajul este că se decolorează rapid.

Prepararea soluţiilor

— Soluţie apoasă saturată de albastru de Nil 100 ml.
— Diferenţiator : soluţie 1% acid acetic în apă distilată (200 ml).

Tehnică. Secţiunile din apă se trec în albastru de Nil, timp de 10—20 de minute ; spălare în apă ; diferenţiere în mai multe băi cu soluţie acid acetic 1%, pînă ce în soluţie nu mai trece colorant ; secţiunile rămîn albastre, clare, omogene ; spălare în apă (1—2 ore), schimbînd de mai multe ori apa (pentru a scoate acidul acetic) ; montarea secţiunilor în glicerină sau glicerin-gelatină (călduţă).

Rezultate. Grăsimile neutre se colorează, rareori, în roşu-portocaliu (nu este o metodă electivă pentru ele) ; acizii graşi şi alte grăsimi la microscop prezintă nuanţe de la albastru-violet la violet. Nucleii şi ţesutul elastic se colorează în albastru închis, iar citoplasma în albastru pal.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 200 de secţiuni)

Nilblau soluţie apoasă saturată . . .	200 ml
Acidum aceticum soluţie 1%	200 ml

b) *Coloraţia glicogenului*

Dispare rapid din ţesuturile moarte, de aceea el trebuie cercetat în ţesuturile recoltate prin biopsie sau piese operatoare.

Scanned with OKEN Scanner

Glicogenul se dizolvă în fixatori apoşi, fiind necesar a se utiliza, în afară de alcool absolut, fixatori speciali ca : formol-alcool, Sabadaş, Susa, Bouin-Allan.

Fragmentele recoltate trebuie fixate imediat după recoltare sau cît mai aproape de momentul decesului (cînd sînt luate de la cadavru).

Alcoolul absolut, fixator specific pentru glicogen, cu condiţia ca fragmentele să fie mici ca să poată fi pătrunse uniform. Durata fixării să nu treacă de 24 de ore.

Coloraţiile se fac pe secţiuni la parafină sau celoidină.

Se vor evita pe cît posibil timpii de spălare.

Coloraţia cu gumă iodată (Brault-Ehrlich)

Principiul se bazează pe schimbarea culorii iodului în prezenţa polizaharidului. Pune în evidenţă numai glicogenul.

Prepararea soluţiilor

Soluţie de gumă iodată formată din :

— soluţia *A* : soluţie groasă de gumă arabică în apă distilată, preparată la termostat (37°) din 5—10 g gumă arabică în 200 ml apă ;

— soluţia *B* : soluţie iodată : 10 g iodură de K dizolvată într-un mojar în 30 ml apă distilată, la care se adaugă 1 g iod metalic, triturîndu-se pînă la completa dizolvare.

Se amestecă 200 ml soluţie A cu soluţia B, se păstrează în vas închis.

Tehnică. Secţiunile, după ce au fost deparafinate, se cufundă în apă caldă ; se toarnă guma iodată pe lamă şi se înclină pentru a se acoperi toată secţiunea. Se lasă 15 minute ; se aplică o lamelă peste guma iodată, apăsînd uşor cu un ac de disociat pentru a ieşi excesul şi se examinează la microscop.

Rezultate. Glicogenul ia o coloraţie brună-acaju. Nu dă alte amănunte.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 200 de secţiuni)

Cod	8 271	*Gummi arabicum pulvis purum* . . .	10 g
Cod	9 373	*Iodum metallicum purum*	1 g
Cod	9 695 b	*Kalium iodatum* p. a.	10 g

Metoda Best

Secţiuni la parafină sau celoidină.

Prepararea soluţiilor

Colorantul Best — soluţia mamă : se dizolvă la cald, într-o capsulă de porţelan, 2 g *Carminum rubrum*, 1 g carbonat de potasiu şi 5 g clorură de potasiu, în 66 ml apă distilată. Se ţine la flacără mică cîteva minute, pînă se dizolvă totul (fără a ajunge la fierbere). După răcire se adaugă 20 ml soluţie de amoniac concentrat. Înainte de colorare se filtrează.

Notă. Durata : 1 lună vara, 2 luni iarna. Se va nota data preparării. Se păstrează în sticlă brună cu dop şlefuit.

Scanned with OKEN Scanner

— *Carmin Best diluat*, compusă din :

colorant Best, soluție mamă filtrată	20 ml
alcool etilic (sau metilic)	30 ml
amoniac concentrat	30 ml

Se prepară în momentul colorării.

— *Diferențiator Best* din :

alcool metilic	40 ml
alcool etilic	80 ml
apă distilată	100 ml

— *Hemalaun* (vezi pag. 337).

Tehnică. Secțiunile deparafinate și hidratate se colorează intens în hemalaun sau hematoxilină, 5—10 minute ; spălare rapidă în apă ; colorare în carmin Best diluat proaspăt, timp de 6—10 minute ; se trece în diferențiator, în băi succesive (pînă cînd lichidul nu se mai colorează în roșu) ; deshidratare prin clătire în alcooluri (80°, 95°, absolut) ; clarificare în xilol fenicat și xilol ; montare în balsam de Canada.

Rezultate. Glicogenul apare colorat în roșu-intens ; nucleii, în albastru ; iar restul în albastru-violet. Nefiind electivă, se mai colorează — tot în roșu — fibrina, mucusul, corpii amilacei, granulele mastocitelor, epiteliile stomacului.

Notă. Se va confrunta rezultatul cu o colorare cu gumă iodată.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 250 de lame cu secțiuni)

Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	150 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum*	80 ml
Cod 2 417	*Alcohol methylicus pt. a.*	40 ml
Cod 2 882	*Ammonia liquida purum*	170 ml
Cod 9 590	*Kalium carbonicum hydricum* p. a.	1 g
Cod 9 599 a	*Kalium chloratum cryst. purum*	5 g
Cod 19 076	*Carminum rubrum optimum*	2 g

Metoda Bauer-Feulgen

Fixarea în amestec de alcool saturat cu acid picric 9 părți și formol neutru concentrat 1 parte. După fixare, piesele se spală în alcool absolut, apoi se includ la parafină.

Prepararea soluțiilor

— *Soluție acid cromic* 4%.

— *Reactiv Schiff :* se dizolvă la cald, în 100 ml apă distilată (într-un flacon Erlenmeyer), 1 g fucsină bazică pulverizată. Se filtrează încă caldă și se toarnă într-un flacon brun cu dop rodat. După răcire se adaugă 20 ml acid clorhidric normal și 1 g bisulfit de sodiu pt. a.

— *Soluția normală de HCl* se prepară din : 100 ml apă distilată cu 8,3 ml HCl concentrat (D=1,19). Soluția astfel pregătită se ține la întuneric, la temperatura camerei, timp de 24 de ore, pînă devine gălbuie. Dacă este roz, nu este bună de întrebuințat și se va prepara alta.

— *Baia de bisulfit* se prepară în momentul întrebuințării din : 10 ml soluție 10% bisulfit de sodiu.

10 ml soluție acid clorhidric normal în 200 ml apă.

— *Hemalaun.*

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică :

— secţiunile deparafinate se trec din apă distilată în soluţie de acid cromic 4%, ţinîndu-se timp de 1 oră la întuneric (sau 12 ore în soluţie 1%) ;
— spălare în apă curgătoare 5—10 minute ;
— trecere în reactiv Schiff timp de 10—15 minute ;
— spălare succesivă în 3 băi de bisulfit de sodiu, cîte 1—2 minute ;
— spălare în apă de robinet ;
— colorarea nucleilor cu hemalaun ;
— spălare în apă timp de 10 minute ;
— deshidratare în alcooluri ;
— clarificare în xilol ;
— montare în balsam de Canada.

Rezultate. Glicogenul se colorează în roşu-violet, iar nucleii în albastru. În roşu se mai colorează mucusul, coloidul şi fibrinoidul.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 662 A	*Acidum chromicum anhydricum purum*	4 g
Cod 926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.*, D=1,19 p. a.	30 ml
Cod 9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. .	7,5 g
Cod 11 784	*Natrium bisulfurosum meta* p. a. . .	2 g
Cod 12 055	*Natrium iodicum* p. a.	0,03 g
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	1 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	0,15 g

C. ORGANE HEMATOPOETICE

În afară de metodele uzuale : hematoxilină-eozină, van Gieson, tricromic, reticulul cu Gömöri etc., se mai colorează cu metode speciale, din care redăm mai jos :

1. MĂDUVA OSOASĂ

Metoda panoptică

Utilizată pentru examenele de măduvă osoasă.

Prepararea soluţiilor

— *Soluţia diluată Romanowski-Giemsa* (1 picătură soluţie concentrată la 1 ml apă tamponată).
— *Soluţia May-Grünwald.*
— *Apa tamponată* este compusă din : fosfat monopotasic 0,48 g+fosfat disodic 1,12 g+apă 200 ml (pH=7,2).

Tehnică :

— colorare cu soluţie May-Grünwald pe lamă (12—15 picături) timp de 3 minute ; se face fixarea şi colorarea unor elemente ;

Scanned with OKEN Scanner

— fără a se scurge colorantul, se picură o cantitate egală de apă (eventual tamponată) și se lasă 1 minut ;

— colorare cu soluție Romanowski-Giemsa diluată și tamponată la pH=7,2, timp de 15—30 de minute ;

— spălare cu apă și uscare.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secțiuni)

Cod 9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	0,48 g
Cod 12 217 A	*Natrium phosphoricum bibasicum* p. a.	1,12 g
Cod 19 724	*Sol. Romanowski-Giemsa*	10 ml
	Sol. May-Grünwald	120 ml

2. GANGLIONUL LIMFATIC

a) Metoda Giemsa

Fixare în Helly, Maximov, Nikiforov, Susa.

Prepararea soluțiilor

— *soluție May-Grünwald* diluată 1/8 în apă distilată ;

— *soluție Giemsa :* soluție Romanowski-Giemsa : 1 picătură la 1 ml apă tamponată ;

— *apă tamponată :* 1 ml apă distilată+1 picătură soluție tampon ;

— *soluție tampon :* fosfat monopotasic 0,48 g, fosfat disodic 1,12 g și apă distilată 200 ml ;

— *amestecuri xilol-acetonă :* I — xilol 5 picături+acetonă 95 de picături ; II — xilol 30 picături+acetonă 70 picături ; III — xilol 70 picături+30 picături ; IV — xilol 95 picături+acetonă 5 picături.

Tehnică :

— lamele deparafinate și deshidratate se trec în soluție May-Grünwald-Giemsa diluată 1/8, timp de 20 de minute, la termostat (37°) ;

— fără spălare, se trec direct în soluții Romanowski-Giemsa diluate, timp de 10—15 minute, la termostat (37°) ; după 10 minute, se controlează și numai dacă este necesar se prelungește colorația ;

— se spală rapid cu apă ;

— se continuă spălarea cu apă acidulată (1 picătură acid acetic la 100 ml apă) ;

— spălare din nou în apă distilată ;

— uscare pe hîrtie de filtru (atenție pentru a nu dezlipi secțiunea) ;

— deshidratare și clarificare în cele 4 amestecuri xilolacetonă ;

— montare în ulei de cedru.

Notă. Colorația dă o policromie a celulelor. După clarificare lamele trebuie să fie complet clare. Există numeroase variante care diferă una de alta.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod	35	*Acetonum purum*	300 ml
Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	2 ml
Cod	9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	0,48 g
Cod	12 217 A	*Natrium phosphoricum bibasicum* p. a.	1,12 g
Cod	16 974	*Xilolum (-thyophen) purum*	300 ml
Cod	19 724	*Giemsa-Romanowski* soluţie	12 ml
		May-Gründwald soluţie	20 ml

b) Colorarea cu hematoxilină Mayer-eozină

Prepararea soluţiilor

— *Soluţia hemalaun Mayer acidulat :* se dizolvă la cald 75 g alaun de potasiu în 1 000 ml apă distilată. Se filtrează la cald şi se adaugă 75 ml soluţie hematoxilină (din soluţia mamă 10%) şi 0,30 g iodat de K dizolvat în apă. Se acidulează punînd la 100 ml soluţie, 0,5 ml acid acetic.

— *Eozina.* Se fierb într-un balon :

100 ml alcool 70°

1 g eozină alcoolică (Eosinblau *spiritus solubile)*
1 g eozină apoasă (Eosingelb *aqua solubile)*
0,25 g oranj G
1 ml acid clorhidric *officinalis*

După răcire se adaugă 20 ml soluţie apoasă saturată de carbonat de litiu. Se filtrează.

— *Soluţia carbonat de litiu :* 100 ml apă distilată+15 g carbonat de litiu.

Tehnică :

— colorare în hemalaun Mayer, 10 minute ;
— spălare în apă de robinet ;
— diferenţiere în alcool clorhidric, 1—2 secunde ;
— spălare în apă ;
— virare în carbonat de litiu, 2—4 minute ;
— spălare în apă ;
— colorare în eozină, 2—3 minute ;
— spălare în apă ;
— alcool etilic picurat pe lamă pînă nu mai iese eozină ;
— deshidratare cu alcool 95° şi absolut ;
— clarificare în xilol fenicat, xilol ;
— montare în balsam de Canada.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . . .	0,50 ml
Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.*, D=1,19, p. a.	2 ml
Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	400 ml
Cod	9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. .	75 g
Cod	10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a. . .	30 g

Scanned with OKEN Scanner

Cod 12 055	*Natrium iodicum* p. a.	0,30 g
Cod 19 435	*Eosin blau spiritus solubile*	7 g
Cod 19 439	*Eosin gelb aqua solubile*	7 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	7,5 g
Cod 20 378	*Orange G.*	1,75 g

D. PRODUSELE PROCESELOR INFLAMATOARE

Metoda Weigert pentru colorarea fibrinei

Fixare în sublimat, alcool, formol sau lichid Müller. Secţiunile la gheaţă sau parafină.

Tehnică :

— Din apă, secţiunile se colorează cu carmin-alaun Grenacher (sau Kernechtrot etc.) timp de 10 minute (se dizolvă 4 g alaun de potasiu în 100 ml apă distilată ; după dizolvare, se adaugă 2 g carmin ; se fierbe 20—30 de minute ; se filtrează după răcire ; la filtrat se adaugă 1 ml formol sau timol).

— Fără a se face deshidratare, se colorează cu violet de genţiană anilinată (sau metil-dimetil anilinat), timp de 5—10 minute (se toarnă, în 100 de părţi apă distilată, 10 părţi ulei de anilină, făcîndu-se o emulsie fină lăptoasă care se filtrează pe un filtru umezit, după ce a fost lăsată 5 minute liniştită ; la filtrat se adaugă soluţie alcoolică concentrată de violet de metil sau genţiană 11 ml şi alcool absolut 10 ml. Conservare indefinită).

— Spălare în apă sau ser fiziologic 0,6%. Se usucă cu hîrtie filtru.

— Diferenţiere în anilină-xilol (ulei de anilină 20 p. şi xilol 10 p.), pînă apare fibrina în violet.

— Spălare şi clarificare în xilol ; montare în balsam.

Rezultate. Fibrina se colorează în violet, iar nucleii în roşu. Metoda nu este electivă, diagnosticul fiind pus mai ales pe aspectul histologic.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	10 ml
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	1 ml
Cod 9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. .	4 g
Cod 16 974	*Xilolum (-thyophen) purum*	40 ml
Cod 19 072	*Carmin*	2 g
Cod 19 716	*Gentiana violet sol. alcoholum* . . .	11 ml
	Natrium chloratum soluţie 0,6% . .	100 ml
	Oleum anilini	90 ml

E. IMPREGNAREA ARGENTAFINĂ

Nu se pot pune totdeauna în evidenţă, cu ajutorul coloranţilor, toţi componenţii tisulari. De aceea se recurge la impregnarea (precipitarea metalelor) la nivelul unor componenţi ca : reticul, endoteliu, neurofibrilele ţesutului nervos central şi periferic. Impregnarea nu este decît

Scanned with OKEN Scanner

o precipitare a metalului dintr-o soluţie salină a unui metal la nivelul ţesuturilor prin fenomenul chimic de reducere, care se face sub formă de pulbere fină sau granule. În acest scop se folosesc săruri de argint, aur şi osmiu.

Pentru a nu se produce artefacte din cauza unor factori care influenţează reducerea în cursul operaţiei de impregnare, trebuie să se ia o serie de măsuri tehnice pentru înlăturarea oricărei cauze sau acţiuni care ar putea să producă aceasta (sărurile din apă, impurităţi, lumină, instrumente metalice etc.).

În acest scop, substanţele folosite trebuie să fie chimic pure, adică să fie substanţe *pro analisi*.

Apa va fi bidistilată ; se va proba cu NO_3Ag.

Sticlăria va fi perfect curată. Ea va fi spălată în amestec sulfocromic şi apoi cu apă distilată, fiind întrebuinţată numai pentru impregnări.

Nu se vor utiliza lucruri metalice. Secţiunile nelipite pe lamă vor fi manipulate cu ace de sticlă.

Piesele vor fi ferite de lumină ; impregnarea se va face la întuneric în vase brune, iar includerea se va face într-o baterie ţinută la întuneric.

Reactivii vor fi păstraţi în recipiente curate ; soluţiile metalice vor trebui să fie complet clare.

Fixarea se face în formol neutru.

IMPREGNAREA FIBRELOR DE RETICULINĂ

Se întrebuinţează pentru fibrele argentafine de reticulină şi a celor mai fine fibre colagene.

Pe aceeaşi lamă fibrele de reticulină apar negre sau brune foarte închise, în timp ce fibrele colagene sînt mult mai deschise la culoare, roşii-cărămizii, aşa încît diferenţierea se poate face uşor. Practic se face prin *metoda Gömöri*, care este cea mai utilizată.

Piesele se pot fixa în : formol, amestecuri de sublimat, bicromat, acid picric. Secţiunile, în special la parafină, bine întinse şi lipite pe lamă.

a) Metoda Gömöri

Fixare în formol sau amestecuri cu sublimat, bicromat sau acid picric. Includerea la parafină dă rezultate foarte bune, mai slabe cele la congelare.

Prepararea soluţiilor

— Soluţie permanganat de potasiu 0,5—1% ;
— Soluţie metabisulfit de potasiu 2% ;
— Soluţie proaspătă de alaun de fier şi amoniu (cristal violet) 2% ;
— Soluţie amoniacală de azotat Ag : 10 ml nitrat de argint 10%+2 ml hidroxid de potasiu 10%, agitînd se picură amoniac concentrat pînă ce precipitatul brun se dizolvă. În continuare se adaugă, picătură cu picătură, nitrat de argint 10% pînă ce precipitatul format se dizolvă. Se dublează volumul soluţiei prin adăugare de apă distilată. Durata folosirii este limitată pînă la 48 de ore, cu condiţia să fie păstrată la întuneric ;
— Soluţie clorură de aur 0,2% ;
— Soluţie tiosulfat de sodiu 1%.

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică :

— oxidarea secţiunilor deparafinate în soluţie permanganat de potasiu 0,5—1%, timp de 1—2 minute ;

— spălare cu apă curgătoare cîteva minute ;

— albire cu soluţie de metabisulfit de potasiu 2%, timp de 1 minut ;

— spălare în apă de robinet, 3—5 minute ;

— sensibilizare la acţiunea nitratului de Ag cu soluţie alaun de fier şi amoniu (proaspăt preparată) ;

— spălare în apă curgătoare şi clătire de 2 ori în apă distilată ;

— impregnare în soluţie amoniacală de nitrat de argint, timp de 1 minut ;

— spălare rapidă în apă distilată ;

— reducere în formol 1/10 diluat cu apă, timp de 5 minute ;

— spălare în apă curgătoare, 5 minute ;

— virare în clorură de aur 0,1—0,2%, timp de 10 minute ;

— spălare în apă distilată ;

— reducere în metabisulfit de potasiu 2%, timp de 1 minut ;

— fixare în tiosulfit de sodiu 1%, 1 minut ;

— spălare în apă ;

— deshidratare ; montare în balsam.

Rezultate. Fibrele de reticulină apar colorate în negru şi cele colagene în roşu.

Reactivi necesari (pentru impregnarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 2 882	*Ammonia liquida purum*	50 ml
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	1 g
Cod 3 558	*Aurum chloratum solutio 2% purum* .	10 ml
Cod 7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.	2 g
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	10 ml
Cod 9 709	*Kalium meta bisulfurosum* p. a. . . .	4 g
Cod 9 767	*Kalium permanganicum* p. a.	1 g
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	1 g
Cod 18 494	*Natrium hydricum* N/1	2 ml

b) **Metoda Wilder**

Prepararea soluţiilor

Soluţia A : soluţie de acid fosfomolibdenic 10% (sau permanganat de potasiu 0,25%) ; *soluţia B :* soluţie de nitrat de uraniu 1% ; *soluţia C :* hidroxid diamino-argentică (soluţie de oxid de argint amonical, care se prepară din 5 ml soluţie 10,2% nitrat de argint şi se adaugă, picătură cu picătură, amoniac concentrat pînă în momentul cînd precipitatul care s-a format se dizolvă. Se adaugă apoi 5 ml din soluţia caustică (hidrat de sodiu) 3,1% şi se dizolvă noul precipitat care se formează prin adăugarea din nou de picături de amoniac. Se completează apoi cu apă distilată pînă la volumul de 55 ml ; *soluţia D :* nitrat de uraniu în soluţie 1% 1,5 ml ; soluţie 40% formol comercial (neutralizat cu carbonat de magneziu) 0,5 ml ; apă distilată 50 ml ; *soluţia E :* soluţie 1 g clorură de aur (Merck) la 500 ml apă distilată.

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică :

— se trec secţiunile în soluţia *A*, 1 minut ; se clătesc apoi în apă distilată ;

— se trec pentru sensibilizare, 5 secunde, în soluţia *B* şi se spală apoi 10—20 de secunde în apă distilată ;

— se trec, 1 minut, în soluţia *C* pentru impregnare, apoi rapid în alcool 95° ;

— reducere în soluţia *D*, 1 minut ; spălare cu apă distilată ;

— se cufundă preparatul în soluţia *E*, 1 minut, şi se clăteşte apoi în apă distilată ;

— se trece, 2 minute, în soluţia de hiposulfit de Na 5% ; spălare în apă de robinet ;

— deshidratare ; montare în balsam.

Rezultate. Fibrele de reticulină se colorează în brun-negru.

Notă. În caz de supraimpregnare se poate face o reducere prin tratare cu soluţie de cianură de potasiu 1%, timp de 2—10 secunde.

Unele tehnici intercalează după primul punct tratarea secţiunilor cu o soluţie de acid bromhidric 34% diluată 1/4 cu apă distilată.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 2 882	*Ammonia liquida purum*	50 ml
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	2,55 g
Cod 3 558	*Aurum chloratum solutio 2% purum* .	50 ml
Cod 7 809	*Formaldehydum 40%* p. a.	1 ml
Cod 10 624 A	*Magnezium carbonicum* p. a.	1 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	3,1 g
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	5 g
Cod 16 422	*Uranium nitricum* p. a.	1 g
	Acidum phosphomolibdaenicum soluţie 10%	100 ml
	sau	
	Kalium permanganicum soluţie 0,25%	100 ml

F. ŢESUTURI — ORGANE

1. METODE PENTRU ŢESUT CARTILAGINOS

Substanţa fundamentală din ţesutul cartilaginos avînd o putere cromotropă crescută, coloraţiile obişnuite dau preparate mai puţin clare.

Rezultate bune se obţin folosind fixatorii şi incluziunea ca şi pentru ţesutul tendinos şi ca metode de coloraţie folosind coloranţi metacromatici ca : tionină, albastru de toluidină. Safranina, cînd este folosită, colorează nucleii celulelor cartilaginoase în roşu, iar protoplasma în roz prin metacromazie.

Cartilajul are afinitate electivă pentru vezuvină.

Scanned with OKEN Scanner

Metoda de colorare cu vezuvină fenicată sau brun Bismarck

Prepararea soluțiilor

— *Vezuvină fenicată* : vezuvină . . . . . 1 g
alcool 95° . . . . . 10 ml
acid fenic . . . . . 10 g
apă distilată . . . . . 100 ml

Se pulverizează vezuvina într-un mojar, apoi se adaugă acid fenic în soluție de alcool, apoi apă distilată cîte puțin, amestecîndu-se cu bagheta timp de 5 minute ;

— *Verde lumină* 0,2% soluție apoasă.

Tehnică :

— colorarea nucleilor în hemalaun ;
— spălare în apă de conductă ;
— colorare cu vezuvină fenicată ;
— spălare în alcool (diferențiază, scoțînd colorantul din țesuturi) ;
— colorarea țesutului conjunctiv cu verde de lumină, 2—3 minute.

Rezultate. Nucleii se colorează în albastru închis ; citoplasma, în albastru ; țesutul conjunctiv, în verde.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secțiuni)

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	10 g
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	10 ml
Cod 9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. .	7,5 g
Cod 12 055	*Natrium iodicum* p. a.	0,03 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	0,15 g
Cod 20 021	*Licht grün* S	0,2 g
Cod 20 934	*Vesuvin*	1 g

2. ȚESUT OSOS

Din cauza sărurilor de calciu depuse în substanța fundamentală, nu se poate studia țesutul osos compact sau spongios imediat după fixare, el trebuind să fie decalcifiat.

Fixarea țesutului osos se face în formol, pentru cazuri speciale în fixator Bouin, timp de 4 zile, în care timp acidul picric începe decalcifierea.

Decalcifierea. Sînt metode chimice și fizice. Cele *chimice* sînt bazate pe acțiunea acizilor slabi (tricloracetic 5—10%, azotic 5%) sau amestecuri de acizi în diferite proporții. Are dezavantajul că decalcifierea durează zile și săptămîni și apoi alterează țesuturile.

Metodele *fizice* prin electroliză constau în accelerarea acțiunii lichidului decalcifiant prin trecerea unui curent continuu de 6 V, furnizat de o baterie-acumulator. Deși este o metodă mai rapidă la temperatura de 30—45°, are o serie de dezavantaje dînd alterări ale piesei ; aparatul este, în același timp, costisitor și greu de întrebuințat.

Recent, Stănciulescu și Rădulescu au imaginat un aparat simplu de electroliză la curent alternativ, cu ajutorul căruia decalcifierea se face, în raport cu grosimea piesei, în timp de 1—3 ore. Aparatul poate fi confecționat în orice laborator de histopatologie, fiind necesare : un recipient

Scanned with OKEN Scanner

de sticlă sau plastic, 2 cărbuni drept electrozi și un circuit în care se interpune, pentru a reduce curentul, o rezistență, care poate fi un bec de 100 W (adaptat la lampa de laborator), folosindu-se curentul rețelei de 120 sau 220 W, fără nici un alt transformator. În recipient se pune un amestec în părți egale de acid tricloracetic 10% și acid azotic 5%.

Metode de colorare. Se pot întrebuința toate coloratiile simple, policrome sau tricromice. Pentru zonele osoase de la extremitățile osoase se recomandă metodele metacromatice Giemsa ; coloratia Mann pentru a se pune în evidență celulele cartilaginoase, capilarele, lamelele osoase care dau aspect spongios țesutului și toată gama de elemente ale măduvei.

Redăm o parte din aceste metode de colorare.

a) **Metoda Enescu**

Tehnică :

— secțiunile sînt colorate în soluție Giemsa concentrată, 20 de picături la 10 ml apă distilată neutră, timp de 2 ore, la 37° ;
— spălare în apă și uscare pe hîrtie de filtru ;
— deshidratare în acetonă pură ;
— clarificare în xilol și montare în balsam de Canada neutru.

Rezultate. Canaliculele osoase apar colorate în albastru-negru.

Reactivi necesari (pentru 100 de lame cu secțiuni)

Cod 35	*Acetonum purum*	100 ml
Cod 19 728 +)	*Giemsa-Azur II* soluție	20 ml

b) **Colorare cu tionină (Schmorl)**

Osul decalcificat, după metoda de mai sus (Stănciulescu-Rădulescu), poate fi secționat prin congelare, după includere la parafină sau celoidină.

Prepararea soluțiilor

— soluție tionină saturată în alcool 50°, 5 ml, la care se adaugă 100 ml apă distilată+5 picături de amoniac ;
— soluție 5% acid fosfowolframic (sau fosfotungstic) ;
— soluție formol 20% (sau amoniac lichid 1 parte la 10 părți apă distilată).

Tehnică. Secțiunile, cît mai subțiri, din apă de conductă vor fi trecute succesiv în :

— colorare cu soluție tionină, diluată în momentul colorării cu o cantitate egală de apă, timp de 25 de minute ;
— spălare în apă de conductă ;
— trecere în alcool 70°, timp de 1—2 minute ;
— trecerea secțiunilor, cu ajutorul unui ac de sticlă, pentru diferențiere, în soluție 5% de acid fosfowolframic (sau fosfotungstic), timp de 30—60 de secunde (sau în soluție concentrată, cîteva secunde) ;
— spălare cu apă de conductă 5—10 minute, pînă ce secțiunea ia coloratia albastră-azurie ;
— mordansare în formol 20%, timp de 1—2 ore, sau în amoniac 1/10, timp de 5 minute ;

Scanned with OKEN Scanner

— deshidratare în alcool 90°, 95° şi absolut ;
— clarificare în xilol ; montare în balsam.

Rezultate. Elementele celulare se colorează în albastru difuz, nucleii mai închişi, iar pereţii cavităţilor osoase în albastru-negru închis.

Notă. Această metodă se poate folosi şi pentru secţiunile de dinţi.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 50 de lame cu secţiuni)

Cod 2 882	*Ammonia liquida purum*	V picături
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	29 ml
	Acidum phosphotungsticum soluţie 5%	100 ml
	Tionină soluţie saturată în alcool 50° .	5 ml
	Alcohol aethylicus 70°	100 ml

3. ŢESUT MUSCULAR

MUŞCHI NETEZI

a) Metoda Fabre

Fixare în formol, Bouin sau Zenker, timp de 48 de ore. După fixare, piesele se trec în alcool-azotic 8%, timp de 7—8 zile. Deshidratare în alcool 95° şi absolut. Clarificare în ulei de cedru. Incluzionare şi secţionare la parafină.

Tehnică :

— secţiunile se colorează în hemalaun şi eozină 0,5%, după metoda cunoscută ;
— diferenţiere în bicarbonat de sodiu 3%, timp de 1/2 oră ;
— deshidratare în alcooluri ;
— clarificare şi montare în balsam.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de secţiuni)

Cod 9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. .	7,5 g
Cod 11 743 +)	*Natrium bicarbonicum* pt. a.	3 g
Cod 12 055	*Natrium iodicum* p. a.	0,03 g
Cod 19 412	*Eosin*	0,50 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	0,15 g

b) Metoda Neubert-Petrescu

Prepararea soluţiilor

— Albastru acid alizarină 0,5 g cu sulfat de aluminiu 10 g, dizolvate la cald în 100 ml apă distilată. Se fierbe 5—10 minute, iar după răcire se readuce volumul la 100 ml şi se filtrează. După aceasta soluţia din albastru-închis, devine roşie-violetă.

— Diferenţiator : soluţie 5% acid fosfowolframic.

Tehnică :

— colorarea secţiunilor în albastru acid alizarină, timp de 5—40 de minute ;

Scanned with OKEN Scanner

— diferenţiere în acid fosfowolframic, timp de 20—30 de minute ;
— spălare în apă distilată, schimbată de mai multe ori, apoi în apă de conductă, timp de 10—15 minute ;
— deshidratare în alcool 95° şi absolut ;
— clarificare în xilol ;
— montare în balsam de Canada.

Rezultate. Ţesutul muscular este colorat în albastru-închis ; nucleii, în albastru-deschis.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 1 379	*Acidum phosphotungsticum* p. a. . .	100 ml
Cod 2 747 +)	*Aluminium sulfuricum* pt. a.	10 g
Cod 18 654	*Alizarin blau acidum*	0,50 g

FIBRA MUSCULARĂ STRIATĂ

Înainte de a cufunda piesa în fixator, de preferinţă în Zenker, să se fixeze capetele fasciculului muscular recoltat pe o bucată de lemn sau carton.

Coloraţia cu hematoxilină ferică Heidenheim

Rezultate. Structurile nucleare apar colorate în negru-albăstrui clar : protoplasma apare palidă, striaţiunile negre-albăstrui, discurile contractile negre.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	10 ml
Cod 7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.	4 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	1 g

FIBRA MUSCULARĂ CARDIACĂ

Recoltarea fragmentelor se va face pe toată grosimea miocardului, prinzînd pericardul, miocardul şi endocardul. De asemenea se vor recolta fragmente de la nivelul muşchilor papilari, cordajelor tendinoase şi peretele interventricular pentru studiul fasciculului Hiss.

Fixatori recomandaţi : cu bază de bicromat sau sublimat ; în cazul impregnărilor, formol neutru.

Metoda Heidenheim

Prepararea soluţiilor

— soluţie 1% negru briliant 3 B acetifiat ;
— soluţie albastru de toluidină 1%.

Scanned with OKEN Scanner

Tehnica colorării :

— din apă distilată, secţiunile se trec în soluţie negru briliant, timp de 1—5 minute ;

— spălare cu apă distilată ;

— colorare cu albastru de toluidină, timp de 5—10 minute ;

— uscare cu hîrtie de filtru ;

— diferenţiere în alcool absolut sau alcool etilic cu alcool metilic, în părţi egale ;

— clarificare în xilol ; montare.

Rezultate. Striaţiunile transversale se colorează în albastru deschis, iar segmentul intermediar în albastru închis.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	1 ml
Cod 18 990	*Brilliant schwartz*	1 g
Cod 20 872	*Toluidin blau*	1 g

4. ŢESUTURILE GLANDULARE

a) *Ficatul*

Ţesuturile glandulare, în marea lor majoritate, reclamă metode caracteristice de colorare în vederea facilitării studiului lor intern.

Fixarea se execută în Susa, Helly, Bouin (în general). Dacă se urmăreşte studiul grăsimilor, fixarea se face în formol ; pentru glicogen, în alcool ; pentru condriom, în soluţie Regaud ; pentru vezicula biliară, injectare cu Carnoy.

Includerea se face la parafină.

Colorarea se face prin metode care au drept scop : 1) evidenţierea citologică a formării bilei, 2) pentru canaliculele biliare etc.

Metoda Farzgren pentru pigmenţii biliari

Tehnică :

— fixarea se execută în soluţie de clorură de bariu 3%, timp de 12 ore, pentru piese de 3—4 mm grosime ;

— se face apoi o suprafixare în formol 10%, timp de 12—18 ore ;

— urmează deshidratarea şi clarificarea, includerea la parafină şi secţionarea la 4—5 microni ;

— se trec apoi secţiunile în vederea colorării cu fucsină acidă 0,1%, timp de 1—3 minute ;

— spălare cu apă distilată ;

— urmează o trecere rapidă (1/2—1 minut) în acid fosfomolibdenic soluţie 1% ;

— fără spălare, secţiunile se introduc apoi într-o soluţie formată din : 0,5 g oranj G, 2 g acid oxalic, apă distilată 100 ml ; se ţin 3—5 minute ;

— spălare în apă distilată ;

— deshidratare în alcooluri ;

— clarificare în xilol ;

— montare în balsam de Canada.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultate. Nucleii apar colorați în albastru sau oranj ; celulele Kupffer, epiteliile căilor biliare, țesutul conjunctiv apar albastre.

Notă. În loc de fucsină se poate colora cu hematoxilină Mallory. În acest caz, pigmentul apare sub formă de granule compacte verzi-albastre închis. Eritrocitele în portocaliu. Conținutul capilarelor biliare și o parte a granulelor din celulele hepatice apar colorate în roșu intens.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secțiuni)

Cod 1 251 +)	*Acidum oxalicum cryst.* p. a.	2 g
Cod 1 353	*Acidum phosphomolibdaenicum* p. a. .	100 ml
Cod 3 760 A	*Barium chloratum* p. a.	3 g
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	25 ml
Cod 18 632	*Acidum rubin*	1 g
Cod 20 378	*Orange G.*	0,50 g

EVIDENȚIEREA CANALICULELOR BILIARE

Metoda Eppinger

Tehnică :

— fixarea pieselor în formol 10%, timp de 5—10 zile ;

— spălare în apă distilată ;

— mordansarea pieselor în mordant Weigert, timp de 10 zile, la temperatura camerei (sau 5 zile, la termostat) ; condiția este ca mordantul să aibă o vechime de cel puțin 8—12 zile. Prepararea se face din fluorură de crom (sau, în lipsă, alaun de crom) 2,5 g, apă distilată 100 ml și formol 10 ml ;

— spălare în apă distilată ;

— includere la celoidină și secționare la 3—5 microni ;

— colorare în hematoxilină (soluție apoasă 1%) ; în caz că este proaspătă, timp de 24 de ore ; dacă soluția este veche, 1/4—2 ore ;

— se trec secțiunile, cu un ac de sticlă, în soluție saturată de acetat de cupru, diluată 50% cu apă distilată, timp de 5 minute ;

— spălare în apă distilată, timp de 1—2 zile ;

— diferențiere în diferențiator Weigert diluat 1/2—1/5, pînă cînd culoarea devine galbenă-cenușie (diferențiator : soluție de fericianură de potasiu 2%, cu soluție apoasă HCl 1% — controlat la microscop) ;

— spălare cu apă ;

— trecere în carmin litinat 5%, cîteva minute, pînă ce celoidina cafenie se decolorează ;

— spălare în apă distilată ; deshidratare ; clarificare în ulei de Origan ; montare în balsam.

Rezultate. Canaliculele biliare își colorează pereții, apărînd ca linii paralele negre sau albastru închis ; celulele hepatice apar albastre deschis, fibrele conjunctive apar roșii.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 5 666	*Chromium floratum oxydatum* p. a. .	2,5 g
Cod 5 921 +)	*Cuprum aceticum oxydatum* pt. a. . .	50 g
Cod 9 639	*Kalium ferri cyanatum* p. a.	2 g
Cod 13 338	*Oleum origani purum*	50 ml
Cod 19 065	*Carminum lithium*	5 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	1 g
	Acidum hydrochloricum soluţie 1% .	100 ml

b) *Adenohipofiza*

Metoda Hurduc

Piese fixate în Bouin, formol, Helly, Susa sau Vasiutocikin.

Prepararea soluţiilor

— Colorant. Amestec de :
  — albastru de metil soluţie apoasă 1% . . . 9 părţi
  — Ponceau de xilidină soluţie apoasă 1% . . 18 părţi
  — galben metanil soluţie apoasă 0,05% . . . 72 de părţi
  — acid acetic glacial . . . . . 1 parte
— Diferenţiator. Alcool absolut amoniacal 0,25—0,50%
— Hematoxilină Weigert.

Tehnică :

— colorarea nucleilor cu hematoxilină Weigert, timp de 5—10 minute ;

— diferenţiere în alcool (96°) clorhidric 0,25%, pînă la obţinerea unei coloraţii nete a nucleilor ;

— spălare în apă de robinet, apoi în apă distilată ;

— colorarea citoplasmei şi a fibrelor conjunctive în amestec albastru de metil-Ponceau-galben metanil, 25—30 de minute ;

— spălare în apă distilată ;

— deshidratare în alcool absolut, reînnoit de cîteva ori ;

— diferenţiere în alcool absolut amoniacal ;

— spălare în alcool absolut, pentru eliminarea diferenţiatorului ;

— xilol sau toluol fenicat 5%, 2—3 minute ;

— xilol sau toluol pur, schimbat de cîteva ori ;

— montare în balsam de Canada.

Rezultate. Nucleii apar net conturaţi, cromatina de culoare brună, nucleolii roşietici, citoplasma celulelor acidofile colorată în cărămiziu, citoplasma celulelor bazofile în nuanţe de albăstrui, citoplasmele cromofobe în cenuşiu, citoplasmele amfofile în violet, fibrele conjunctive (reticulare şi colagene) în albăstrui, hematiile în portocaliu.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 1 000 de secţiuni)

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	10 ml
Cod 929	*Acidum hydrochloricum* D=1,17—1,19 *purum*	1 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* . .	1 000 ml

Scanned with OKEN Scanner

Cod 2 882	*Ammonia liquida purum*	5 ml
Cod 7 646	*Ferrum chloratum oxydatum anhydricum* p. a.	2,9 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	1 g
Cod 20 064	*Methanyl gelb*	0,40 g
Cod 20 068	*Methyl blau*	1 g
Cod 20 550	*Ponceau 4 R*	2 g
	Perclorură de fier soluție 29% . . .	4 ml

c) *Glandele suprarenale*

Nu necesită, pentru studiul general, colorații speciale. Metoda cu rezultate foarte bune pentru punerea în evidență a celulelor și conjunctivului este Azanul. Cu metoda Nissl apare foarte frumos pigmentul din stratul reticular al corticalei suprarenale.

Colorarea celulelor cromafine

Pentru medulara suprarenalei se poate folosi cu succes metoda pentru colorarea celulelor cromafine.

Tehnică :

— fixare în amestec bicromat de potasiu 5% 10 ml + formol 1% 20 ml și apă distilată 20 ml, timp de 1—4 zile ;

— supracromare în soluție apoasă de bicromat de potasiu sol. 5%, durata 1—2 zile ; spălare în curent de apă 24 de ore ;

— includere și secționare la parafină ;

— colorare în soluție apoasă de toluidină 1%, timp de 20 de minute ;

— spălare în apă de robinet, 5 minute ;

— colorare în soluție apoasă de safranină 1%, 20 de minute ;

— diferențiere în alcool 96°, pînă ce secțiunea devine din nou albastră ;

— xilol fenolat, xilol, balsam.

Rezultate. Celulele cromafine sînt verzi, nucleii roșii ; citoplasma celorlalte celule, albastră.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame)

Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	100 ml
Cod 9 540 +)	*Kalium bichromicum* 96°—98° p. a. . .	10 g
Cod 20 706	*Safraninum T.*	1 g
Cod 20 872	*Toluidin blau*	1 g
	Formaldehydum soluție 1%	20 ml

d) *Tiroida*

Țesutul glandular tiroidian poate fi fixat cu orice fixator, reacționînd satisfăcător la colorațiile impuse de studiu.

Rezultate mai bune se pot obține prin fixare în Zenker-formol sau Susa-formol.

Scanned with OKEN Scanner

Se recomandă secţionarea la microtomul de gheaţă, dar de obicei se face la celoidină sau parafină. Pentru studiul celulelor epiteliale se recomandă metoda Bensley ; pentru studiul coloidului, metoda Krauss.

Metoda de coloraţie Bensley

Se recomandă pentru studiul celulelor tiroidiene.

Tehnică :

— fixare în Zenker sau formol ;

— includere şi secţionare la parafină (cît mai puţină albumină pe lamă);

— colorare în soluţie de brazilină :

— brazilină	0,05 g
— acid fosfotungstic	1 g
— apă distilată	100 ml

Se dizolvă brazilina în apă şi se adaugă soluţie de acid ; durează numai 3 zile ;

— spălarea secţiunilor cu apă;

— o a doua colorare într-o soluţie de acid fosfomolibdenic 1 g, albastru de metil 0,2 g şi apă distilată 100 ml, timp de 5 minute ;

— spălare rapidă în apă distilată ;

— uscare cu hîrtie de filtru ;

— deshidratare în alcool absolut;

— clarificare în toluol ;

— montare în balsam.

Rezultate. Citoplasma apare albastră-violet ; cromatina, roşie închis ; conţinutul vacuolar, albastru ca cerul ; picăturile coloidale intracelulare sînt colorate în albastru închis sau roşu închis.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 1 353	*Acidum phosphomolibdaenicum* p. a. .	1 g
Cod 1 379	*Acidum phosphotungsticum* p. a. . .	1 g
Cod 18 954	*Brazilinum*	0,05 g
Cod 20 068	*Methyl blau*	0,20 g

Metoda de coloraţie Krauss

Este întrebuinţată pentru studiul coloidului.

Tehnică :

— organele, foarte proaspete, se fixează în formol 1/8, la 37° ;

— includere şi secţionare la parafină, la 3—5 microni ;

— colorare în soluţie de albastru de metilen policrom, timp de 6 minute ;

— spălare scurtă în apă distilată ;

— diferenţiere în tanin 25%, pînă ce culoarea din secţiune nu mai difuzează în soluţie ;

Scanned with OKEN Scanner

— colorare în amestecul fucsină-tanin :

soluţie fucsină acidă 5%	în părţi egale
soluţie de tanin 33%	
glicerină	
eter	

Colorarea continuă pînă ce nucleii celulelor devin albaştri-aprins, iar conjunctivul este roşu ;

— spălare îndelungată în apă distilată ;

— se execută o supracolorare cu fucsină acidă 2%, timp de 1 minut ;

— spălare scurtă în apă distilată ;

— trecere printr-o soluţie de acid fosfomolibdenic 1%, timp de 30 de secunde ;

— spălare în apă ;

— uscare cu hîrtie de filtru ;

— trecere rapidă prin alcool absolut, apoi xilol ;

— montare.

Rezultate. Coloidul fucsinofob se colorează în albastru deschis : coloidul fucsinofil, în roşu-galben ; coloidul taninofil, în roşu-violet.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 843	*Acidum gallotanicum anhydricum pur*	33,25 g
Cod 1 353	*Acidum phosphomolibdaenicum* p. a.	1 g
Cod 1 774	*Aether aethylicus anhydricum* p. a.	25 ml
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	25 ml
Cod 18 632	*Acidum rubin (Fuchsin S.)*	3,25 g
Cod 20 534	*Polichrom methylen blau solutum*	100 ml

e) *Pancreasul*

La fixare comportă două feluri de tratări, în funcţie de coloraţiile care se fac, generale sau speciale. Dintre metodele speciale, redăm tehnica de coloraţie pentru studiul insulelor Langerhans — metoda Lane şi Bensley.

Metoda Lane pentru studiul insulelor Langerhans

Prepararea soluţiilor

Fixatorii : *A* — soluţie saturată de sublimat în alcool 96° } aa
soluţie de bicromat de potasiu 2,5%

B — bicromat de K . . . . . 2,5 g
sublimat . . . . . 5 g
apă . . . . . 100 ml

Coloranţi : soluţie genţiana-oranj (amestec de 50 ml soluţie apoasă saturată de violet de genţiană, sau violet crital, cu 50 ml soluţie apoasă saturată de oranj G ; precipitatul rezultat se spală cu apă distilată pe un filtru, apoi se usucă şi se dizolvă după uscare în 50 ml alcool metilic).

În vederea colorării, din soluţia mamă de mai sus se picură într-o cantitate de alcool 20°, pînă ce acesta ia culoarea hemalaunului.

Soluţie de diferenţiere : alcool absolut 1 parte, esenţă de cuişoare 3 părţi.

Coloraţia se referă la celulele *A* şi *B* din insulele Langerhans. Bensley mai deosebeşte un tip — tipul *C* — de celule fără granulaţii.

Tehnică :

— pentru *celulele A :* fixare, timp de 2—4 ore, în fixator A ;
— spălare în alcool 50° ;
— includere şi secţionare la parafină ;
— pentru *celulele B* : fixare, timp de 2—4 ore, în fixator B ;
— spălare în apă ;
— deshidratare ;
— includere şi secţionare la parafină ;
— colorarea secţiunilor, timp de 24 de ore, în amestecul colorant diluat ;
— uscare în hîrtie de filtru ;
— deshidratare în acetonă ;
— diferenţiere (pînă ce granulele de zimogen din celulele exocrine devin violete-purpurii pe fond brun-cafeniu) ;
— clarificare în xilol şi montare în balsam.

Rezultate. În urma fixării în fixatorul *A*, se văd în *celulele A* granulaţii fine intens colorate în violet. *Celulele B* sînt slab oranj. După fixare în fixatorul *B*, aspectul este inversat.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 35	*Acetonum purum*	200 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* . .	25 ml
Cod 2 417	*Alcohol methylicus* p. a.	50 ml
Cod 21 452	*Oleum cinammoni cassiae R.I.*	75 ml
	Alcohol aethylicus 20°	200 ml
	Gentiana violet soluţie saturată apoasă	50 ml
	Orange G scluţie apoasă	50 ml

Metoda Bensley

Este o variantă a metodei de mai sus.

Tehnică :

— fixare în fixatorul *B* ;
— includere ;
— secţionare ;
— colorare, 24 de ore, în soluţie de genţiană-oranj (vezi pag. 374) ;
— uscare în hîrtie de filtru ;
— fixare, timp de 5 minute, în soluţie 5% de molibdat de amoniu ;
— spălare în apă ;
— colorare în fucsină anilinată, timp de 5 minute, la 60° ;
— diferenţiere în soluţie alcalină de acid picric 30% ;
— alcool absolut, xilol, balsam.

Rezultate. Granulele celulelor A devin roşii, granulele celulelor B devin violete.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 1 397	*Acidum picricum* p. a.	30 g
Cod 2 417	*Alcohol methylicus* p. a.	50 ml
Cod 3 006	*Ammonium molibdaenicum cryst. purum*	5 g
Cod 18 632	*Acidum rubin*	6 g
	Alcohol aethylicus 20°	100 ml
	Alcohol aethylicus 70°	100 ml
	Gentiana violet soluţie saturată apoasă	50 ml
	Orange G soluţie saturată apoasă . .	50 ml
	Apă anilinată saturată	100 ml

f) *Epifiza*

Fixarea se realizează în lichide fixatoare ca : Susa, Bouin, formol. De preferat este însă soluţia Susa, deoarece conţinînd acid tricloracetic decalcifică zonele mici calcifiate (concreţiuni calcaroase, nisip cerebral).

Colorarea se poate face prin metodele generale sau prin metoda Azan (pentru fibrele gliale), sublimat-clorură de aur (pentru astrocite) şi metoda Hortega (pentru celulele pineale).

Metoda Hortega

Prepararea soluţiei Hortega : se amestecă 5 ml soluţie nitrat de argint 10% cu 20 ml carbonat de sodiu 5% ; se formează un precipitat care se dizolvă prin adăugare de amoniac pur. Se completează, după dizolvare cu apă distilată, volumul total pînă la 45 ml.

Tehnică :

— fixare în formol, 3—5 zile ;

— secţionare la gheaţă ;

— se trec secţiunile într-o soluţie 2% de nitrat de argint 10 ml cu 3 picături de piridină, pînă cînd capătă culoarea brun deschis;

— se spală în apă distilată cu 2 picături de piridină pentru 20 ml apă distilată ;

— impregnare în soluţie Hortega + 3 picături piridină pentru 10 ml soluţie ; amestecul este încălzit la 50° pînă la colorarea sepia a secţiunilor ;

— spălare în apă distilată ;

— reducere în formol 1/10 ;

— trecere în soluţie de clorură de aur 1/500 la cald, pînă ce capătă un ton violet ;

— spălare foarte rapidă ;

— trecere în tiosulfat de sodiu 5% ;

— spălare, deshidratare, montare.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod	2 382	*Ammonium liquida purum*	25 ml
Cod	3 431	*Argentum nitricum* p. a.	0,70 g
Cod	3 558	*Aurum chloratum solutio 2% purum*	50 ml
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	10 ml
Cod	11 847 +)	*Natrium carbonicum siccum* pt. a.	0,50 g
Cod	12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	5 g
Cod	14 376	*Pyridinum purum*	X picături

g) *Timusul*

Fragmentele de timus se fixează în Susa, Helly, Maximov. Includerea se face la parafină, iar colorarea cu metodele generale ale organelor hematopoetice. Pentru corpusculii Hassal se pot întrebuinţa coloraţiile Azan şi Masson.

h) *Ovarul*

Fixarea se realizează în Bouin şi Susa, iar includerea la parafină. Coloraţiile frecvent întrebuinţate sînt Azan, hematoxilină ferică, tricrom Masson.

i) *Testicului*

Fragmentele de testicul necesită o fixare atentă în Susa, Bouin. În studiul spermatogenezei se folosesc soluţiile Zenker, Allen şi Carnoy.

Includere mixtă în celoidină + parafină, pentru evitarea separării canalelor seminale de glanda interstiţială.

Colorarea se face cu hematoxilină ferică, metoda cu safranină, violet de genţiană, oranj G.

G. PIELEA

Colorarea secţiunilor de piele, în afară de H.E. şi V.G., se poate face cu coloraţia policromă Pasini.

Metoda Pasini

Piesele se fixează în formol, Zenker, Susa, Bouin. Includere la parafină sau celoidină.

Prepararea soluţiilor

A — soluţie 2% acid fosfowolframic (fosfotungstic);

B — soluţie amestec albastru apos-orceină preparată din: 100 ml soluţie 1% albastru apos (Anilinblau *aqua solubile*), orceină 2 g şi alcool 100 ml; după dizolvare se mai adaugă acid acetic glacial 10 ml şi glicerină 40 ml.

Pentru colorare se amestecă 2 părţi din soluţia *A* şi 1 parte din soluţia *B*;

C — soluţie 2% eozină în alcool 50°;

D — soluţie saturată apoasă de fucsină acidă;

E — glicerină neutră.

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică :

— secţiunile se trec în soluţia *A* (acid fosfowolframic), timp de 10 minute ;

— spălare rapidă în apă ;

— colorare în amestec soluţie *B*+*C* (cîte 1,50 ml), soluţie *D* 0,20 ml şi glicerină (D) 1,25 ml. Se ţin 20 de minute ;

— spălare cu apă distilată ;

— diferenţiere în alcool absolut ;

— trecere din nou în soluţia *A*, cîteva minute ;

— deshidratare în alcool absolut ;

— clarificare în xilol ; montare în balsam.

Rezultate. Nucleii, keratohialinul apar colorați în roșu ; keratina, în roșu-galben ; protoplasma, în albastru deschis ; colagenul, în albastru închis ; fibrele elastice, în roșu-brun.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 200 de lame cu secţiuni)

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . . .	10 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	200 ml
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	80 ml
Cod 13 357	*Orceinum purum*	2 g
Cod 18 754	*Anilin blau aqua solubile*	1 g
Cod 19 435	*Eosin blau spiritus solubile*	4 g
	Acidum phosphotungsticum soluţie 2%	200 ml
	Alcohol aethylicus 50°	200 ml
	Fuchsin S soluţie saturată apoasă . .	200 ml

VI. COLORAREA AGENŢILOR PATOGENI ÎN ŢESUTURI

a) *Colorarea pentru bacterii gram-negativ şi -pozitiv*

Metoda Gram

Fixare obişnuită. Incluzionare la parafină.

Prepararea soluţiilor

— carmin alaunat : carmin 1 g+alaun de amoniu 5 g, dizolvate la fierbere în 100 ml apă distilată (timp de 15 minute) ; se filtrează la cald, apoi din nou la rece ; se adaugă un cristal de timol sau puţin acid salicilic ;

— alcool clorhidric ;

— soluţie violet de genţiană fenicat : soluţie alcoolică saturată violet de genţiană 10 ml+acid fenic concentrat (acid carbolic) 2 ml+apă distilată 10 ml ;

— soluţie Lugol 100 ml.

Tehnică :

— colorare pe lamă cu carmin-alaun, timp de 5 minute ;

— trecere în alcool clorhidric, 1 minut ;

— spălare cu apă ;

— colorare pe lamă cu violet de genţiană, 3 minute ;
— spălare cu Lugol, 5 minute ;
— decolorare cu ulei de anilină ;
— xilol ; balsam.

Rezultate. Microbii gram-pozitivi se colorează în violet ; microbii gram-negativi, în roşu ; ţesuturile sînt colorate în roz-roşu. Cînd conţin fibrină, ţesuturile sînt colorate în violet.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod	581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	4 g
Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.* D=1,19 p. a.	2 ml
Cod	1 454 +)	*Acidum salycilicum* p. a.	0,02 g
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a. . . .	200 ml
Cod	2 602 +)	*Alumen amoniacale* pt. a.	10 g
Cod	10 384	*Lugolum solutio* p. a.	200 ml
Cod	19 072	*Carminum*	2 g
		Gentiana violet soluţie saturată alcoolică	10 ml

b) *Colorarea bacilului Koch*

Colorarea Ziehl în ţesuturi

Fixare obişnuită. Prelungirea fixării nu mai permite colorarea. Secţionare la parafină.

Prepararea soluţiilor

— soluţie de fucsină bazică : se dizolvă în mojar, prin triturare, 1 g fucsină bazică în 10 ml alcool absolut, la care se adaugă 5 g fenol crist. şi 100 ml apă distilată ; se toarnă în sticlă cu dop şlefuit. Se lasă 24 de ore pentru maturare. Se filtrează înainte de utilizare ;

— soluţie albastru de metilen : 1 g albastru de metilen la 300 ml apă distilată ;

— diferenţiator alcoolic acidulat : 100 ml alcool 70° cu 5 ml acid lactic (sau acid clorhidric).

Tehnică :

— lamele deparafinate, din apă se trec pe tava de colorare sau pe o ramă de sticlă, cu secţiunile în sus şi se toarnă peste ele soluţia de fucsină bazică. Se încălzeşte cu un bec Bunsen pînă degajează vapori (nu se va încălzi prea tare). Se repetă încălzirea la 2—3 minute. În total lamele se ţin în fucsină încălzită timp de 15—20 de minute :
— spălare cu apă de conductă ;
— diferenţiere, turnînd pe lamă alcool acidulat (sau alcool clorhidric) pînă cînd secţiunile iau o culoare roz-palidă ;
— spălare abundentă cu apă ;
— colorare cu albastru de metilen, 30 de minute ;
— spălare cu apă ;
— deshidratare rapidă în alcool 95° ;
— clarificare rapidă ; montare.

Scanned with OKEN Scanner

Rezultate. Nucleii se colorează în albastru ; citoplasma în albastru deschis ; bacilii, în roşu.

Notă. Lamele se păstrează la întuneric.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod	581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a.	10 g
Cod	1 022	*Acidum lacticum* D=1,21 p. a.	10 ml
		sau	
Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.* D=1,19 p. a.	2 ml
Cod	2 335 a	*Alcohol aethulicus absolutus purum* .	20 ml
Cod	19 626	*Fuchsin basicum*	2 g
Cod	20 120	*Methylen blau*	2 g
		Alcohol aethylicus 70°	200 ml
		Alcohol aethylicus anhydricum . . .	200 ml

c) *Colorarea spirochetelor prin impregnare argentică*

Se poate face pe piese sau pe secţiuni.

Metoda Manouélian (pe piese)

Tehnică :

— se fixează fragmentele de 1—2 mm grosime, timp de 30 minute pînă la 2 ore, în formaldehidă 10% sau în alcool-formol (90 părţi alcool absolut + 10 părţi formaldehidă) ;

— spălarea pieselor în 3 reprize a 10 minute în alcool 90°, apoi 3 ore în apă distilată, schimbată de 2—3 ori ;

— impregnare cu nitrat de argint 2%, la etuvă de 41° sau 56°, timp de 30 de minute ;

— se ia piesa din soluţia de nitrat, cu pensa parafinată, şi se trece în soluţia de : acid pirogalic 1 g, formol 5 ml, apă distilată 45 ml. Se lasă în această soluţie reductoare 30 de minute — 48 de ore ;

— secţionare la gheaţă sau prin includere la parafină ;

— montare în balsam, fără a mai colora fondul.

Rezultate. Spirochetele apar negre, pe fond galben.

Reactivi necesari (pentru impregnarea a 20 de fragmente)

Cod	1 424	*Acidum pyrogallicum resublimat* p. a.	2 g
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus 90°* pt. a.	500 ml
Cod	3 431	*Argentum nitricum* p. a.	2 g
Cod	7 809	*Formaldehydum 40%* p. a.	65 ml

Metoda Levaditti

Este cea mai des întrebuinţată, dînd rezultate sigure.

Tehnică :

— fixare de fragmente subţiri în formol 10%, timp de 24 de ore ;

— trecerea fragmentelor în alcool 90°, timp de 24 de ore ;

— spălare cu apă distilată ;

Scanned with OKEN Scanner

— impregnare în soluţie nitrat de argint 1,5—3%, timp de 3—6 zile ;
— spălare în apă distilată, timp de 1—2 ore ;
— reducere cu acid pirogalic formolat, la temperatura camerei, timp de 24—48 de ore, sau în amestecul reductor Levaditti-Manouélian (pirogalol 4%, 90 ml cu acetonă 10 ml, din care se iau în momentul întrebuinţării 10 ml şi se înlocuiesc cu piridină pură). Fragmentele se ţin aici timp de 24—48 de ore, la temperatura camerei ;
— spălare cu apă, timp de 1—2 ore ;
— includere la parafină, secţionare şi montare fără altă coloraţie de fond.

Rezultate. Spirochetele apar colorate în negru închis.

Reactivi necesari (pentru impregnarea a 20 de fragmente)

Cod	35	*Acetonum purum*	10 ml
Cod	1 424	*Acidum pyrogallicum resublimat* p. a.	90 ml
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	300 ml
Cod	3 431	*Argentum nitricum* p. a.	3 g
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	100 ml
Cod	14 376	*Pyridinum purum*	10 ml

d) *Colorarea incluziunilor patologice în ţesuturi*

CERCETAREA CORPUSCULILOR BABEŞ-NEGRI ÎN TURBARE

Se vor fixa piesele (din sistemul nervos, cornul Amon în special) în Zenker sau alcool-formol. Spălare în apă, timp de 3 ore. Includere la parafină.

Metoda Mann

Prepararea soluţiilor

Soluţia *A* (colorant Mann) : albastru de metil 1% în apă distilată 35 ml, eozină 1% 45 ml, apă distilată 100 ml ; soluţia *B* (alcool-alcalin) : alcool absolut 30 ml+sodă caustică soluţie 1%, V picături ; este diferenţiator.

Tehnică :

— colorare la rece în soluţia *A*, timp de 24 de ore ;
— clătire în apă distilată, cîteva minute ;
— deshidratare cu alcool absolut ;
— diferenţiere în alcool-alcalin (soluţia *B*), pînă cînd secţiunea devine roşie ;
— spălare în alcool ;
— diferenţiere cu eozină în apă distilată ;
— trecere în alcool absolut ; xilol ; balsam.

Rezultate. Corpusculii Babeş-Negri apar coloraţi în roşu.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	130	ml
Cod 10 310	*Liquor natrii caustici* (-N) D=1,23 p. a.	V	picături
Cod 19 441	*Eosin gelblich*	1,45	g
Cod 20 068	*Methyl blau*	0,35	g

Notă. Soluţia *A* conţine albastru de metil (nu de metilen).

Metoda Zottner

Tehnică :

— secţiunile se trec în alcool litinat, apoi în acid nitric 1/3, timp de 3 minute ;

— fără spălare, se colorează cu fucsină fenicată la rece, 15 minute ;

— spălare rapidă în apă ;

— colorare timp de 15 minute în : indigo-carmin soluţie 1%+soluţie saturată de acid picric, în părţi egale ;

— deshidratare în alcool absolut (secţiunea devine verzuie) ;

— trecere în xilol, apoi în balsam ; montare.

Rezultate. Corpii Babeş-Negri apar albaştri-verzui.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a.	5	g
Cod 1 189	*Acidum nitricum* (-Cl, Pb) D=1,42 p. a.	100	ml
Cod 1 397	*Acidum picricum* p. a.	2	g
Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	100	ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum*	110	ml
Cod 10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a.	0,15	g
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	1	g
Cod 19 800	*Indigo carminum*	0,50	g

PUNEREA ÎN EVIDENŢĂ, ÎN FICAT, A INCLUZIUNILOR NICOLAU

Metoda Nicolau

Prepararea pieselor

Fixarea pieselor, de 2—3 mm grosime, în Dubosque-Brasil timp de 5—8 zile ; spălare, 30 de minute, în apă, apoi în alcool 95° pînă a doua zi. Se trec în băi de alcool absolut cîte 1 oră, apoi în băi de xilol, 1 oră. Includere la parafină (I — parafină 56° timp de 1 oră ; II — parafină 60° timp de 1 oră ; III — parafină 60° timp de 1 oră şi jumătate, apoi bloc).

Tehnică :

— colorare în amestecul Mann (soluţie apoasă de eozină galbenă 1% 24 ml + soluţie apoasă albastru de metil 1% 16 ml + apă distilată 50 ml). Se ţin 24 de ore, la temperatura camerei sau 2 ore la 37° ;

— spălare cu alcool absolut, apoi cu alcool alcalinizat (vezi pag. 381). Secţiunea virează în roşu-violet ;

— trecerea secţiunilor în alcool absolut ; xilol ; balsam.

Rezultate. Incluziunile apar colorate în roşu-viu, în contrast cu fondul albastru al carioplasmei.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	130 ml
Cod 10 310	*Liquor natrii caustici* (-N) D=1,23 p. a.	V picături
Cod 19 439	*Eosin gelb aqua solubile* Y.S.	0,24 g
Cod 20 068	*Methyl blau*	0,16 g

Metoda Nicolau-Kopciovska

Pentru colorarea inframicrobilor voluminoşi care depăşesc 100 microni.

Prepararea soluţiilor

— soluţia *A* : fucsină acidă 1,5 g, alcool metilic 33 ml, glicerină 5 ml, soluţie acid oxalic 6% 2 ml şi apă distilată 60 ml ;

— soluţia *B* : albastru de metilen 1,5 g, alcool metilic 33 ml, glicerină 5 ml, soluţie acid oxalic 6% 2 ml şi apă distilată 60 ml.

Tehnică :

— secţionare foarte fină a piesei, de 2 microni, lipită pe lamă ;

— se toarnă pe lamă soluţia *A* şi se ţine 2 ore ;

— se varsă colorantul şi, fără a spăla, se acoperă lama cu soluţia *B* şi se ţine 10—15 minute ;

— se spală abundent cu alcool absolut ;

— clarificare în xilol şi montare în balsam de Canada.

Rezultate. Se pun în evidenţă, pe secţiuni : virusul herpetic, varicelos, zoonatos, rabic etc.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 50 de lame cu secţiuni)

Cod 1 251 +)	*Acidum oxalycum* p. a.	0,30 g
Cod 2 417	*Alcohol methylicus* p. a.	66 ml
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	10 ml
Cod 18 632	*Acidum rubin (Fuchsin S)*	1,5 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	1,5 g

VII. PIGMENŢI

a) *Colorarea pigmentului melanic şi a celulelor argentafine*

Metoda cu oxid de argint amoniacal

Se bazează pe proprietatea granulaţiilor de melanină de a reduce oxidul de argint amoniacal.

Prepararea soluţiilor

— *Lichidul Fontana* (nitrat de argint amoniacal). Într-o soluţie de nitrat de argint 5% se toarnă, cu picătura, amoniac pînă la redizolvarea precipitatului de oxid de argint ; se adaugă apoi în continuare, cu picătura, soluţie 5% de nitrat de

argint pînă la opalescența permanentă a lichidului. Ea nu trebuie să exale miros de amoniac. Se lasă să se clarifice prin sedimentare. Conservare în flacon galben, la întuneric.

Lichidul de viraj Cajal.

— *soluția A:* sulfocianură de amoniu 2% în apă distilată . . . 3 ml
hiposulfit de sodiu . . . . . 3 g
apă . . . . . 100 ml
— *soluția B:* soluție clorură de aur 1% în apă distilată . . . 100 ml
Se amestecă soluția *A* cu soluția *B* în momentul întrebuințării.
— *Fixator:* hiposulfit de sodiu 5%.

Tehnică:

— secțiunile, după congelare sau includere, se spală cu apă distilată sau cu apă amoniacală (10 picături la 100 ml), timp de 2—3 ore;
— trecerea secțiunilor în lichid Fontana, în recipient bine închis și la întuneric, timp de 24 de ore (pentru celule argentafine 36 de ore);
— spălare în apă distilată;
— virare în lichid Cajal, 10 minute;
— clătire în apă;
— fixare în hiposulfit de sodiu 5%, 1 minut;
— spălare bine în apă, 15 minute;
— deshidratare și montare în balsam.

Rezultate. Pigmentul apare colorat în negru opac, restul incolor. Granulațiile argentoreductoare apar colorate în negru.

Notă. Restul elementelor pot fi colorate cu hemalaun, safranină, van Gieson etc.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 80 de lame cu secțiuni)

Cod 2 882	*Ammonia liquida purum*	50 ml
Cod 3 073 +)	*Ammonium rhodanatum cryst. (sulfocyanatum)* pt. a.	5 g
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	5 g
Cod 3 558	*Aurum chloratum solutio 2% purum* .	50 ml
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	8 g

b) *Colorarea pigmentului feruginos și feros*

Fixări obișnuite. Secțiuni la parafină.

Metoda cu albastru de Prusia (reacția Perls)

Prepararea soluțiilor

Soluție de acid clorhidric 1% și soluție de ferocianură de potasiu 2% în părți egale, amestecate extemporaneu.

Colorant pentru nucleu. Kernechtrot sau carmin-alaun.

Tehnică:

— colorarea secțiunilor cu amestecul de HCl și ferocianură, 15—20 de minute (se pot trata secțiunile pe rînd, întîi cu soluția ferocianură de potasiu 2% cîteva minute, apoi rapid în HCl);
— spălare în apă;
— colorarea nucleilor cu Kernechtrot (sau carmin-alaun), 10—15 minute;

— spălare în apă ;
— diferenţiere în alcool acetifiat 1% ;
— deshidratare în alcool absolut ;
— xilol ; montare în ulei de cedru sau balsam de Canada.
Rezultate. Fierul apare colorat în albastru.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	1 ml
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	100 ml
Cod	2 747 +)	*Aluminium sulfuricum* pt. a.	5 g
Cod	9 642	*Kalium ferro cyanatum* p. a.	2 g
Cod	19 857	*Kernecht rot pro mikroskopie*	0,1 g
		Acidum hydrochloricum soluţie 1% .	100 ml

Metoda de Vogel cu albastru Turnbull

Prepararea soluţiei

I. soluţie concentrată de sulfură de amoniu — 100 ml
II. soluţie apoasă de fericianură de potasiu 20% / soluţie apoasă de acid clorhidric — aa 50 ml

Tehnică :
— se tratează secţiunile cu soluţie proaspătă sulfură de amoniu concentrată, timp de 2 ore ;
— spălare în apă distilată ;
— trecere, 15 minute, în soluţia II preparată în momentul întrebuinţării ;
— spălare cu apă distilată ;
— montare în balsam de Canada sau ulei de cedru.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum (sine As.)* D=1,19 p. a.	50 ml
Cod	3 103 +)	*Ammonium sulfuricum* pt. a.	10 g
Cod	9 639	*Kalium ferri cyanatum*	10 g

VIII. SISTEMUL NERVOS

a) *Metoda Golgi de colorare a celulei nervoase*

Prepararea soluţiilor

— bicromat de potasiu 5%,
— soluţie acid osmic 1%,
— soluţie azotat de argint . . . . 1%.

Tehnică. Se recoltează fragmente proaspete, groase de cel mult 3 mm (creier, cerebel, măduvă).

Scanned with OKEN Scanner

Fixare în amestecul: soluție bicromat de potasiu 5% (4 părți) + soluție acid osmic 1% (1 parte). Durata fixării este de 2—8 zile, în borcane colorate. Dacă fixatorul se tulbură, va fi schimbat.

Impregnare: fragmentele se scot din fixator, se spală cu apă distilată 24—48 de ore și se usucă cu hîrtie de filtru; se cufundă la început piesa, timp de 24 de ore, într-o soluție 0,25% nitrat de argint, unde se produce o precipitare masivă. Cînd precipitatele nu mai apar, se trece piesa în baie argentică definitivă, soluție de 0,75—1% azotat de argint proaspăt preparată în borcan colorat sau la întuneric, la temperatura camerei sau la termostat (37°); piesele vor fi suspendate în baie. Durata impregnării 1—6 zile.

Incluzia: fragmentele se spală în apă distilată, apoi în alcool 80°, schimbat de mai multe ori, pînă nu se mai formează precipitate; hidratare pentru a fi secționate la gheață sau includere rapidă la parafină sau celoidină (după deshidratare) și secționare; spălarea secțiunilor în alcool 80°, pentru a înlătura argintul de prisos de la suprafață; continuarea deshidratării cu alcool absolut; clarificarea cu creozot, ulei de cedru sau ulei bergamote (se interzice întrebuințarea xilolului, mai ales pentru secțiunile de la celoidină); montare în balsam de Canada, mai subțire. Se montează cu lamelă. De preferat să nu se acopere cu lamelă fragmentele, acestea fiind foarte friabile; de obicei sînt acoperite cu balsam și uscate în locuri ferite de praf.

Rezultate. Celula nervoasă cu prelungirile ei capătă o culoare neagră închisă, cu un fond deschis gălbui. Se observă numai forma celulelor. Acest aspect este cunoscut în tehnica neurohistologică sub numele de silueta neagră a neuronului.

Reactivi necesari (pentru cromarea a 50 de fragmente)

Cod 1 245	*Acidum osmicum solutio* 2% p. a. . .	50 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	500 ml
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	6 g
Cod 9 541 +)	*Kalium bichromatum* chimic pur . .	20 g
Cod 9 934	*Kreosotum purum*	80 ml
	sau	
Cod 13 320	*Oleum bergamotae* p. a.	80 ml
	sau	
Cod 13 328	*Oleum cedri spisum pro optica purum*	80 ml

b) *Metoda de colorare a substanței cromoidale (Nissl)*

Metoda Nissl este utilizată în studiul citoarhitectonic. În psihiatrie este metoda de electție.

Prepararea soluțiilor

— Albastru de metilen *B* 3,75 g în 1 000 ml apă distilată (sau tionină 1%).
— Soluția de diferențiere:
  a) ulei de anilină . . . . . 10 ml
     alcool 96° . . . . . 90 ml
  b) licnidul Godhard: un amestec de creozot pur 50 ml, ulei Cajeputti 40 ml, xilol 50 ml și alcool absolut 150 ml.

Scanned with OKEN Scanner

— Xilol colofonium. Se pisează colofoniul din comerț și se toarnă peste el xilol. Se pune sub un clopot. Apare în curînd un strat subțire, clar, transparent, peste un strat tulbure. Stratul clar, decantat, constituie soluția mamă a colofoniului.

Tehnică.

Fixare și secționare :

— Fixare în alcool 96°. Recoltarea se face cît mai repede după moarte (maximum 12—18 ore). Fragmentele nu prea mici (latura de cel puțin 1 cm). Alcoolul se schimbă în fiecare zi, apoi la 2 zile, pînă cînd nu mai dă o tulbureală lăptoasă apei cu care se amestecă.

— După 4—8 zile, fragmentele ajung la consistența dorită (depinde de grosimea piesei) ; se orientează cu un brici în fragmente cu grosimea de maximum 6—8 mm. Piesele se lipesc cu gumă arabică groasă pe suporturi de lemn (ca la celoidină). Se taie fără incluzie, cu microtomul de celoidină, secțiuni de 10—15 microni, ceea ce permite obținerea „imaginilor echivalente". Cuțitul se îndreaptă oblic și se udă în alcool 96°. Se pot face incluziuni la celoidină sau parafină, cum și secțiuni la gheață.

Colorare.

Secțiunile se introduc în colorant (tionină sau albastru de metilen) care este preparat cu cel puțin 3 luni înainte. Colorantul trebuie să fie foarte pur și se filtrează înainte de întrebuințare.

Secțiunile cu colorant se încălzesc la o lampă de alcool pînă începe evaporarea lichidului. Apoi se scot și sînt introduse în diferențiator.

Acest timp trebuie efectuat cu foarte mare atenție, pentru a nu rata coloratia. Dacă se depășește cu încălzirea stadiului de emisiune de vapori, secțiunile se scufundă și devin inutilizabile.

Se diferențiază cu una din soluțiile descrise ; secțiunile se țin în diferențiator pînă se întind complet.

Se usucă cu hîrtie sugativă și se clarifică rapid cu o picătură de esență de Cajeputti. Diferențiatorul se poate utiliza pînă capătă culoarea albastră-verde.

Colorarea și diferențierea durează 5—10 secunde.

Se scurge esența înclinîndu-se lama și se tamponează cu hîrtie de filtru. Se spală lama cu benzină, evitîndu-se uscarea.

Montare cu xilol-colofoniu sau mai bine cu balsam de Canada neutru. Secțiunile acoperite cu această substanță se încălzesc, se acoperă cu o lamă și se lasă la termostat (37°) cîteva ore pentru a evita formarea bulelor de aer.

Notă. Pentru a nu se decolora secțiunile, se păstrează ferite de lumină. Decolorarea este grăbită dacă nu s-a eliminat cu grijă uleiul de anilină și uleiul de Cajeputti, ori dacă s-a utilizat un mediu de montare prea fluid.

Rezultate. Nucleii și nucleolii se colorează în albastru intens, clar. Substanța cromatică, după caz, prezintă o dispersiune normală sau o marginație excentrică.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	500 ml
Cod 5 837	*Collophonium purum*	25 g
Cod 8 271	*Gummi arabicum pulvis purum* . . .	50 g
Cod 9 934	*Kreosotum purum*	50 ml
Cod 13 322	*Oleum cajeputti purum*	40 ml
Cod 16 974	*Xilolum (-thiophen) purum*	50 ml
Cod 20 120	*Methylen blau*	3,75 g
	sau	
Cod 20 014	*Lauth violet (Thionin)*	1 g
	Oleum anilini	10 ml

c) *Metoda de impregnare a neurofibrilelor*

Punerea în evidenţă a neurofibrilelor este bazată pe afinitatea lor pentru sărurile metalice.

Metoda Bielsowski

Se bazează pe puterea argento-reductoare a aldehidelor. Lichidul Bielsowski se prepară vărsînd într-o soluţie de NO_3Ag cîteva picături de NaOH. Complexul argentic format se reduce imediat în prezenţa formolului şi dă o excelentă impregnare neurofibrilară. Se utilizează pe secţiuni la gheaţă.

Prepararea soluţiilor

— Soluţie 2% de nitrat de argint.

— Soluţie argentoamoniacală : într-o mensură, perfect curată, se varsă 20 ml NO_3Ag soluţie 2% şi 5 picături NaOH soluţie 40% ; se formează imediat un precipitat brun-negru, care se dizolvă adăugînd amoniac, picătură cu picătură. În timpul reacţiei se agită lichidul cu o baghetă de sticlă. Se recomandă evitarea excesului de NH_3, ţinînd seama de timpul necesar de la vărsarea picăturii şi timpul cînd se face dizolvarea. NH_3 trebuie să fie foarte pur şi de fabricaţie recentă. Cînd dizolvarea precipitatului este terminată, se adaugă apă distilată pînă la 40 ml.

Nu este necesară prepararea soluţiei Bielsowski extemporaneu. Se ţine în sticle opace. Pentru impregnare se foloseşte o diluţie 1/5 în apă distilată.

— Clorură de aur 0,5/250 ml ;

— Hiposulfit de Na 5%.

Tehnică. Permite impregnări foarte regulate, dar pretinde o consistenţă fermă a ţesuturilor.

Fixare în soluţie de formol 10—20%, timp de 8—10 zile pînă la 3—6 săptămîni.

Fragmentele, cît se poate de subţiri, sînt spălate timp de 2—3 ore în apă curgătoare, apoi 24—48 de ore în apă distilată reînnoită, de mai multe ori. Spălarea uşurează congelarea şi asigură, prin eliminarea formolului, o reducere convenabilă.

Secţionare la gheaţă 5—10 microni ; după o spălare rapidă, secţiunile se trec 24 de ore în soluţie NO_3Ag 2% pînă la colorare în brun.

Scanned with OKEN Scanner

Spălare rapidă în apă distilată şi trecerea secţiunilor într-o soluţie de argint amoniacal, unde se ţin 15—20 de minute pînă cînd capătă o culoare brună-înschisă.

Se spală în mai multe cristalizoare, conţinînd apă distilată în abundenţă.

Reducere în soluţie de formol 20% preparat cu apă de robinet.

Virare, după o spălare scurtă, într-o soluţie 1/500 $AuCl_2$. Tenta secţiunilor trece de la brun-închis la gri-violet. Virajul prelungit, uneori timp de o oră, face să apară cele mai fine rămurele nervoase şi dă adesea un metacromism, permiţînd o distincţie netă între cilindrax şi fibrele colagene.

Fixare în hiposulfit de Na 5%, timp de 5—10 minute.

Spălare cu grijă şi deshidratare în alcool 90° şi alcool absolut.

Xilol fenicat 1/10 şi balsam.

Rezultate. Neurofibrilele şi terminaţiile nervoase apar în negru, pe fond clar cenuşiu. Fibrele conjunctive apar în violet-palid. Mielina, uneori, apare roz-palid.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod	2 882	*Ammonia liquida purum*	25 ml
Cod	3 431	*Argentum nitricum* p. a.	2,5 g
Cod	3 558	*Aurum chloratum solutio* 2% *purum* .	25 ml
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	200 ml
		Natrium hydricum soluţie 40% . . .	V picături

Metoda prin tratarea prealabilă a pieselor cu piridină

Pentru punerea în evidenţă mai netă a cilindraxului se trec secţiunile de la congelare, 24 de ore, într-o baie de piridină pură. Se spală apoi cu apă, pînă la eliminarea completă a mirosului de piridină.

Metoda cu piridină este indicată pentru material formolat vechi. Împiedică impregnarea simultană a fibrelor nevroglice şi a fasciculelor colagene, dar punerea în evidenţă a neurofibrilelor intracelulare este mai puţin perfectă, decît metoda originală.

Impregnarea în bloc. Dacă piesele, de consistenţă inegală, prezintă zone cu ramolisment puternic, dacă fragmentul are un contur accidentat, secţiunea la congelare este foarte greu de realizat. Atunci se impregnează pe bloc.

Prepararea soluţiilor

— Soluţie argint amoniacal: se prepară ca mai sus; se completează cu apă pînă la 100 ml. Soluţia este mai diluată ca pentru secţiunile la congelare: 40 ml soluţie cu 60 ml apă distilată.
— Soluţie NO_3Ag 3%.
— Soluţie clorură de aur 1/500.
— Soluţie hiposulfit de sodiu 10%.

Tehnică. Se fixează cel puţin o săptămînă într-o soluţie de formol neutru 10—20%, se recoltează fragmente subţiri de 5 mm şi cu feţe paralele.

Scanned with OKEN Scanner

Se lasă fragmentul în piridină pură 3 zile, la temperatura laboratorului; se spală 24 de ore în apă curgătoare şi tot atîta în apă distilată.

Impregnare cu o soluţie 3% de NO_3Ag timp de 3 zile, la 36°.

Spălare rapidă cu apă distilată.

Se pun fragmentele, timp de 24 de ore, într-o soluţie de argint amoniacal.

Spălare cu apă distilată (1 oră), schimbîndu-se de cîteva ori (durata depinde de grosimea piesei).

Reducere cu o soluţie neutră de formol 20%, timp de 10 ore.

Includere şi secţionare la parafină, după tehnica obişnuită.

Tratarea secţiunilor în clorură de aur 1/500, timp de 5—10 minute.

Spălare cu apă distilată, 2 minute.

Tratare cu hiposulfit de Na 10%, timp de 10—15 minute.

Spălare cu apă distilată, 30 de minute.

Deshidratare.

Clarificare, montare în balsam.

Rezultate. Cilindraxul apare impregnat excelent; neurofibrilele intracelulare, puţin satisfăcător. La nivelul scoarţei, impregnările neuroganglionare sînt mediocre.

Este avantajos să se practice, pe secţiuni deja impregnate, o coloraţie nucleară cu un colorant bazic de anilină: albastru policrom, verde de metil, cresyl violet.

Reactivi necesari (pentru impregnarea a 50 de fragmente)

Cod 2 882	*Ammonia liquida purum*	25 ml
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	3,5 g
Cod 3 558	*Aurum chloratum solutio 2% purum* .	25 ml
Cod 7 809	*Formaldehydum 40% p. a.*	200 ml
Cod 12 415	*Natrium thyosulfuricum* p. a.	10 g
Cod 14 376	*Pyridinum purum*	200 ml

d) *Colorarea mielinei*

Metoda Benda-Spielmayer

Prepararea soluţiilor

— Alaun de fier şi amoniu 2,5% (cristale violet).

— Hematoxilină Spielmayer: hematoxilină alcoolică 10% 5 ml (filtrat)+apă distilată 100 ml.

Tehnică. Se întrebuinţează material formolat vechi sau fragmente fixate, cel puţin 3 zile, în formol 10%.

Secţionare la gheaţă (secţiunile de 25 la 35 de microni).

Mordansare în alaun de fier 2,5%, o noapte întreagă (12 ore).

Spălare în apă distilată de 3—4 ori pînă iese excesul de mordant. Se trec apoi secţiunile în alcool 70°, 5—10 minute şi se agită. Alcoolul facilitează pătrunderea colorantului. Nu se utilizează alcool mai concentrat, căci dizolvă mielina.

Scanned with OKEN Scanner

Colorare, timp de 1—2 ore, în hematoxilină Spielmayer bine maturată (se poate prelungi chiar 12 ore).

Spălare în apă și diferențiere în soluție alaun de fier amoniacal, sub control microscopic (soluția de mordansare este îndoită cu apă). Dacă colorarea este insuficientă, se reîncepe colorarea și diferențierea. Se spală de 2—3 ori cu apă distilată și apoi cu apă de robinet, ½ oră. Atenție pentru a nu decolora mielina.

Alcool, xilol, balsam.

Scoarța cerebrală se diferențiază în circa 30 de minute; măduva și trunchiul cerebral se diferențiază în cîteva ore.

Rezultate. Teaca mielinică apare colorată în negru; fondul în verde palid.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secțiuni)

Cod 7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.	5 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	0,50 g
	Alcohol aethylicus 70°	500 ml

Variantă a metodei Spielmayer

— Secțiuni de 38—40 de microni, includere la celoidină.

— Secțiunile, din alcool 70°, se trec în apă distilată.

Tehnică. Mordansare în alaun de fier 5%, timp de 24 de ore.

Spălare în apă distilată, pînă iese excesul de mordant (3—4 ape).

Se introduc secțiunile în alcool 70° (100 ml alcool, 40 ml apă), timp de 5—10 minute. Se scurg pe filtru.

Colorare în hematoxilină Heidenheim 10%, 1—2 ore. (Preparare: 10 g hematoxilină cristalizată + 100 ml alcool absolut). Se lasă să se matureze 3—4 săptămîni. Se păstrează în sticle cu dop rodat. La întrebuințare se face o soluție 5% (48 ml apă distilată + 2,5 ml hematoxilină Heidenheim).

Spălare cu apă distilată.

Diferențiere în alaun de fier (diluat ½ cu apă distilată). Se agită piesele. Se spală cu apă.

Deshidratare: în alcool 96° (2 băi) și apoi în alcool absolut.

Creozot sau lichid Godhard.

Toluol (I—II); balsam.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secțiuni)

Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	200 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	275 ml
Cod 7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.	6,5 g

Cod 9 934	*Kreosotum purum*	50 ml
Cod 13 322	*Oleum cajeputti purum*	40 ml
Cod 14 745	*Hematoxylinum purum*	2,5 g
	Alcohol aethylicus 70°	200 ml

Metoda Loyez

Fixare în formol. Includere la parafină.

Prepararea soluţiilor

Soluţie hematoxilină litinată: 10 ml soluţie alcoolică 10% de hematoxilină (soluţie mamă)+100 ml apă distilată. Se adaugă 2 ml de soluţie saturată de carbonat de litiu.

Soluţie alaun de fier: se dizolvă 4 g alaun de fier şi amoniu (cristale violete) în 100 ml apă distilată.

Diferenţiator Weigert: borax 2 g, fericianură de potasiu 2—5 g, apă distilată 200 ml.

Apă alcalinizată cu amoniac: 2—3 picături NH_3 la 100 ml apă distilată.

Tehnică. Din apă, secţiunile se mordansează în soluţie de alaun.

Spălare rapidă în apă distilată.

Colorare în soluţie hematoxilină litinată, în cutii Laveran acoperite, timp de 24 de ore.

Spălare cu apă de robinet.

Diferenţiere în soluţie alaun de fier diluată în părţi egale cu apă distilată; se ţine pînă cînd fondul devine cenuşiu, iar mielina neagră.

Spălare cu apă distilată.

Diferenţiere cu soluţie Weigert.

Trecere în apă alcalinizată cu amoniac.

Deshidratare, clarificare, montare în balsam.

Rezultate. Mielina şi nucleii apar coloraţi în negru.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	10 ml
Cod 2 882	*Ammonia liquida purum*	V picături
Cod 7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.	4 g
Cod 9 639	*Kalium ferri cyanatum* p. a.	2 g
Cod 10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a. . . .	1,5 g
Cod 11 799 a	*Natrium boracicum cryst.* p. a. . . .	2 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	1 g

e) *Colorarea nevrogliei*

Metoda I. T. Niculescu-Horneţ

Varianta I

Prepararea soluţiilor

— Soluţie acid bromhidric: la 5 ml HBr de 48°,5 se adaugă 95 ml apă distilată;

Scanned with OKEN Scanner

— sublimat-clorură de aur :
soluţie clorură de aur 1/75 . . . 7 ml
sublimat corosiv 2% . . . . . 25 ml
se filtrează şi se adaugă :
apă distilată . . . . . 18 ml
acid acetic . . . . . 15 picături (nu este indispensabil) ;
— Acid oxalic 5% ;
— Bisulfit de Na 5%.

Tehnică. Fixare nelimitată în formol 10% (chiar ani).

Piese tăiate la congelare de 20 de microni.

Deformalizarea secţiunilor, timp de 24 de ore, într-un cristalizor cu apă distilată acoperit, căreia i s-a adăugat în prealabil 15 picături NH_3 la 100 ml apă.

Mordansare : secţiunile sînt trecute direct sau după o scurtă spălare într-o baie de HBr 5% la 37° timp de 1 oră.

Spălare minuţioasă în 3 ape distilate şi a 4-a oară în apă acidulată de acid acetic.

Impregnare în sublimat cu clorură de aur. Este recomandabil ca impregnarea să se facă într-un vas Petri mare, astfel ca secţiunile să nu fie suprapuse. Impregnarea se face la întuneric, fie lent la temperatura laboratorului timp de 15—24 de ore, fie rapid la 37° — 1 oră. Se opreşte impregnarea cînd piesele devin roşii-purpurii. Se preferă impregnarea lentă.

Reducerea eventuală în acid oxalic 5%, cîteva minute, pînă se obţine o nuanţă închisă a secţiunilor. Acest timp nu este indispensabil.

Spălare în apă distilată.

Fixare în hiposulfit de sodiu 5% cu cîteva picături de NH_3.

Spălare cu apă, alcool, xilol fenicat.

Balsam.

Rezultate. Se impregnează macroglia şi picioruşele perivasculare. Se produce o depunere fin granulară pe gliocite şi prelungiri, vizibilă numai la măririle însemnate.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de secţiuni)

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	20 ml
Cod	1 251 +)	*Acidum oxalicum cryst.* p. a.	5 g
Cod	2 882	*Ammonia liquida purum*	XXV picături
Cod	8 715 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst. pur* .	0,50 g
Cod	11 782	*Natrium bisulfurosum cryst.* p. a. . . .	10 g
Cod	12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	5 g
		Aurum chloratum soluţie 1/75	7 ml
		Acidum bromhidricum soluţie 5% . .	125 ml

Varianta a II-a

Prepararea soluţiilor

— Soluţie 5% de acid bromhidric (48°,5).

— Azotat de argint amoniacal Bielsowski : 1 g azotat de argint+5 ml apă distilată+4 picături hidrat de sodiu 40%. Se toarnă amoniac, picătură cu picătură,

amestecînd mereu cu bagheta. Cînd rămîn cîţiva grăunţi de precipitat, se opreşte turnarea amoniacului. Se completează pînă la 20 ml cu apă distilată. Această soluţie mamă se diluează cu 40 ml apă distilată şi se filtrează; înainte de impregnare se iau 10—20 ml lichid+40—80 ml apă distilată.

— Clorură de aur soluţie 1/500.
— Hiposulfit de sodiu 5%.

Tehnică. Material fixat în formol 10—15%.

Secţiunile la congelare, de 15—20 de microni.

Secţiunile sînt trecute, timp de 24 de ore, în apă distilată cu amoniac (15—20 de picături la 100 ml apă), pentru deformolizare.

Baie de HBr 5% (48°,5) la 37°, timp de 1 oră.

Spălare în mai multe băi succesive cu apă distilată.

Impregnare în azotat de argint amoniacal Bielsowski. Se realizează la căldură (15—30 de minute), deasupra unei flăcări mici. Cînd secţiunile devin galbene-brune (tabac), se opreşte impregnarea. Se lasă să se răcească lichidul înainte de a începe reducerea.

Spălare rapidă cu apă distilată.

Reducere în baie de formol neutru 5% (cu CO_3Ca).

Spălare cu apă distilată.

Trecerea secţiunilor în clorură de aur 1/500, timp de 10—20 de minute.

Spălare rapidă şi fixare în hiposulfit de Na 5%.

Baie în apă, deshidratare, xilol fenolat.

Montare în balsam de Canada.

Rezultate. Nevroglia clasică şi microglia se impregnează constant; ţesutul conjunctiv fibrilar perivascular se pune în evidenţă mai slab.

Metoda este utilizată mai ales în studiul tumorilor.

Reactivi necesari (pentru impregnarea a 100 de secţiuni)

Cod 2 882	*Ammonia liquida purum*	10 ml
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	1 g
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	100 ml
Cod 12 415	*Natrium thyosulfuricum* p. a.	5 g
	Aurum chloratum soluţie 1/500 . . .	100 ml
	Acidum bromhidricum soluţie 5% . .	100 ml
	Natrium hydricum soluţie 40% . . .	X picături

f) *Metoda de impregnare a fibrelor şi terminaţiilor nervoase*

Metoda Bielsowski-Gross-Schultze

Fixarea pieselor în formol 10%, timp de 8—12 zile, pentru fragmente mici.

Prepararea soluţiilor

— Soluţie nitrat de argint 20% în apă bidistilată.
— Formol 20%, neutru.
— Apă acidulată cu acid acetic (2—3 picături la 100 ml apă).

Scanned with OKEN Scanner

— Soluţie clorură de aur 1%. Din aceasta se diluează 5 picături în 10 ml apă distilată pentru impregnare.
— Soluţie tiosulfat de Na 5%.
— Soluţie argentoamoniacală : se toarnă într-o mensură curată 5 ml soluţie nitrat de argint 20%, peste care se picură amoniac pînă cînd precipitatul care se formează la început se dizolvă. Se adaugă după aceea încă cîte 1 picătură NH_3 pentru fiecare mililitru de amestec obţinut astfel, pentru ca amoniacul să existe în exces (pentru a nu colora fibrele conjunctive).

Tehnică. Secţiunile, făcute la congelare, se trec în apă bidistilată.
Tratare cu soluţie nitrat de argint 20% la întuneric, timp de o oră şi jumătate.

Trecere în formol 20%, schimbat de cîteva ori, pînă cînd nu se mai formează nori albicioşi.

Spălare cu apă distilată.

Trecere în soluţie argentoamoniacală, timp de 30—60 de secunde (control microscopic).

Trecere în soluţie slabă de formol, 30 de secunde pînă la 1 minut.
Spălare în apă distilată.
Trecere în : apă distilată 8 ml + amoniac 2 ml, timp de 1 minut.
Trecere în apă acidulată, 1 minut.
Trecere în soluţie diluată de clorură de aur, timp de 1 oră.
Fixare în tiosulfat de sodiu.
Spălare abundentă cu apă.
Deshidratare ; clarificare ; montare obişnuită.

Rezultate. Fibrele şi terminaţiile nervoase apar în negru.

Notă. Dacă după tratare cu soluţie argentoamoniacală se colorează şi fibrele conjunctive, se adaugă 2—3 picături de amoniac acetic şi se mai lasă secţiunile în soluţie.

Reactivi necesari (pentru impregnarea a 100 de secţiuni)

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	XX picături
Cod	2 882	*Ammonia liquida purum*	50 ml
Cod	3 431	*Argentum nitricum* p. a.	20 g
Cod	3 558	*Aurum chloratum solutio* 2%	10 ml
Cod	12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	5 g
		Formaldehydum soluţie 20%	150 ml

IX. HISTOCHIMIE

1. EVIDENŢIEREA MUCOPOLIZAHARIDELOR

Mucopolizaharidele (M.P.Z.), definite ca polizaharide conţinînd glucozamine, se divid în :

a) mucopolizaharide neutre compuse din acetilglucozamină şi
b) mucopolizaharide acide care sînt :

— simple (acid hialuronic) şi
— complexe (de tip condroitin sulfat etc.).

Punerea în evidenţă a mucopolizaharidelor se face prin mai multe metode. Cele mai des utilizate în laborator sînt : reacţia P.A.S. (Periodic Acid Schiff), Hotchkiss—Mac Manus, pentru evidenţierea M.P.Z. neutre şi reacţia Hale pentru M.P.Z. acide.

a) *Evidenţierea M.P.Z. neutre—metoda P.A.S.*

Fixarea pieselor se face, în afară de alcool absolut care este cel mai accesibil, în lichidul Carnoy. Includerea se face la parafină.

Prepararea soluţiilor

acid periodic soluţie 1% ;
reactivul Schiff (vezi reacţia Feulgen) ;
apă sulfuroasă : la 180 ml apă distilată se adaugă 10 ml soluţie 10% de metabisulfit de sodiu şi apoi 10 ml HCl normal ;
verde de lumină soluţie 2 mg%.

Tehnică. Secţiunile sînt aduse pînă la apă distilată.
Se introduc în acid periodic, timp de 5—10 minute.
Spălare cu apă curentă, timp de 2 minute.
Trecere în reactiv Schiff, timp de 15—45 de minute.
Spălare în 3 băi de apă sulfuroasă a cîte 5—10 minute.
Spălare în apă curgătoare, 10—15 minute.
Colorare rapidă cu verde de lumină.
Deshidratare în alcooluri crescînde (70°, 90°, absolut).
Clarificare în xilol.
Montare în balsam de Canada.

Notă. Dacă se evidenţiază M.P.Z. acide, coloraţia de contrast se face cu o substanţă acidă.

Probe de control. Deoarece substanţele P.A.S. pozitive colorate în roşu-violaceu sînt numeroase, pentru a le diferenţia se recomandă blocarea grupărilor 1—2 glicol, care dă reacţia de acetilare. Dacă după deblocarea lor cu alcali se pozitivează, reacţia P.A.S. iniţială este dată de 1 : 2 glicoli.

Reactivi : A. soluţie de acetilare : anhidridă acetică 10 ml, piridină pură 20 ml ; B. hidroxid de K N/10 ; C. reactivi pentru reacţia P.A.S. (ca mai sus).

Tehnică. Se aduc secţiunile pînă la alcool.
Se colorează o secţiune (*a*) în mod obişnuit, după metoda P.A.S.
Alte două secţiuni (*b* şi *c*) cu reactiv *A*, timp de 45 de minute.
Spălarea secţiunilor (*b* şi *c*) în apă distilată.
Secţiunea (*c*) se tratează cu hidroxid de K (reactiv *B*) timp de 20 de minute (saponificare).
Spălare rapidă a secţiunii (*c*) cu apă distilată.
Tratarea în continuare a secţiunilor (*b*) şi (*c*) cu P.A.S.

Scanned with OKEN Scanner

Deshidratare în alcooluri crescînde (70°, 90°, absolut).
Clarificare în xilol şi montare în balsam de Canada.

Rezultate. P.A.S. pozitiv în secţiunile (*a*) şi (*c*) şi negativ în secţiunea (*b*) arată natura glucidică.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod 136	*Acidum aceticum anhydricum* p. a. .	100 ml
Cod 926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.* D=1,19 p. a.	20 ml
Cod 1 298	*Acidum perjodicum* p. a.	1 g
Cod 9 672	*Kalium hydricum in rotulis* p. a. . .	4 g
Cod 11 783	*Natrium bisulfurosum meta purum* . .	17 g
Cod 14 376	*Pyridinum purum*	120 ml
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	1,50 g
Cod 20 021	*Licht grün S*	0,20 g

b) *Metoda Hale pentru mucopolizaharide acide*

Fixare în fixator Carnoy. Includere la parafină.

Reactivi : 1. fier dializat (B.D.N.) ; 2. acid acetic 2 M ; 3. ferocianură de potasiu 0,02 N ; 4. acid clorhidric 0,14 N ; 5. roşu neutru 1% (sau carmalaun Mayer).

Tehnică. Tratarea secţiunilor cu amestec în părţi egale de fier dializat şi acid acetic 2 M, timp de 10 minute.

Spălare riguroasă cu apă distilată.

Tratare cu amestec în părţi egale de fericianură de potasiu 0,02 N şi acid clorhidric 0,14 N, timp de 10 minute.

Spălare cu apă distilată.

Colorarea nucleilor cu roşu neutru 1% timp de 1—2 minute sau carmalaun Mayer timp de 6—18 ore.

Deshidratare ; clarificare în xilol ; montare în balsam de Canada.

Rezultate. Mucopolizaharidele acide se colorează în albastru puternic, iar nucleii în roşu.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de secţiuni)

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	12 ml
Cod 9 639	*Kalium ferri cyanatum* p. a.	1 g
Cod 20 874	*Toluilen rot (neutral rot)*	1 g
	Fier dializat	100 ml

2. EVIDENŢIEREA SUCCINDEHIDROGENAZEI

Metoda Nachlas

Ţesut recoltat proaspăt. Secţiuni la congelare.

Reactivi.

Soluţie substrat : soluţie stock tampon-succinat. (Se amestecă volume egale de tampon fosfat 0,2 m (pH = 7,6) cu succinat de sodiu 0,2 M) ;

Scanned with OKEN Scanner

Mediu de incubare : la 10 ml soluţie stock succinat se adaugă 10 ml soluţie apoasă de Nitro-B.T. (1 mg/ml).

Tehnică. Se incubează secţiunile în soluţie substrat la 37°, timp de 5—20 minute.

Se spală cu ser fiziologic.

Se fixează în formol salin 10%, timp de 10 minute.

Se clătesc în alcool 15%, 5 minute.

Montare în glicerină.

Rezultate. Prezenţa depozitelor albastre de diformazan indică locurile de activitate succindehidrogenazică.

Reactivi necesari (pentru 100 de secţiuni)

Cod 9 788 b	*Kalium phosphoricum monobasicum anhydrum purum*	2 g
Cod 11 860 A	*Natrium chloratum cryst.* p. a. . . .	10 g
Cod 12 217 A	*Natrium phosphoricum bibasicum* p. a.	15 g
	Nitro-B.T.	0,2 g

3. PUNEREA ÎN EVIDENŢĂ A ACIZILOR NUCLEICI (A.D.N. şi A.R.N.)

Acizii nucleici cunoscuţi sînt :

— acidul dezoxiribonucleic (A.D.N.) care se găseşte în nucleii celulari ;

— acidul ribonucleic (A.R.N.) care predomină în citoplasmă, găsindu-se însă în cantităţi mici şi în nucleoli.

Fiecare dă reacţii histochimice specifice.

Metodele de uz curent sînt : I — Metoda Brachet modificată de Kurnick pentru A.D.N. şi A.R.N. şi II — Reacţia Feulgen pentru A.D.N. Fixarea se face în amestecul Carnoy, fragmente de 1—3 mm, durata pînă la 24 de ore. Includerea la parafină.

a) Metoda Brachet, modificată de Kurnick, pentru A.D.N. şi A.R.N.

Prepararea soluţiilor

— *Pironină g* soluţie apoasă 2%. Această soluţie este spălată cu cloroform prin agitare într-o pîlnie de separare, pînă cînd stratul cloroformic nu se mai colorează.

— *Verde de metil* soluţie apoasă 2%. Verdele de metil fiind impurificat cu violet de metil, soluţia se va spăla cu cloroform ca mai sus, pînă cînd nu se mai colorează stratul cloroformic în violet.

— *Soluţia de colorare.* Se amestecă : 125 ml soluţie pironină g+7,5 ml soluţie verde de metil+30 ml apă distilată.

Tehnică. Secţiunile deparafinate şi hidratate se trec succesiv în :

— soluţie metil-pironină, timp de 6—10 minute ;

— se scurg şi se tamponează cu hîrtie de filtru ;

— trecere în 2 băi de alcool butilic normal, cîte 5 minute ;

— trecere în xilol, 5 minute ;

Scanned with OKEN Scanner

— trecere în ulei de cedru 5 minute sau clarificare şi montare în mod obişnuit.

Rezultate. Cromatina se colorează în verde (A.D.N.); nucleolii şi A.R.N. citoplasmatic, în roşu strălucitor.

Probe de control. Verificarea se face prin îndepărtarea acizilor nucleici din secţiune şi efectuarea reacţiei în mod obişnuit.

Îndepărtarea A.D.N. şi A.R.N. se face tratînd secţiunile deparafinate şi hidratate, fie cu HCl N/1 (8,2 ml HCl, D = 1,19 în 100 ml apă distilată), timp de 3 ore, la termostat (37°), fie cu acid tricloracetic soluţie apoasă 4% timp de 15 minute la 90°. Se spală în apă pentru îndepărtarea acizilor şi apoi se aplică tehnica de mai sus, începînd de la tamponarea cu hîrtie de filtru. A.D.N. şi A.R.N. nu mai apar pe lamele astfel tratate.

Reactivi necesari (pentru 100 de secţiuni)

Cod 558	*Acidum butyricum* normal p. a.	100 ml
Cod 5 563 a	*Clorophormium* p. a.	500 ml
Cod 18 616	*Acidum grün*	0,50 g
Cod 20 588	*Pyronin G*	5 g

b) Reacţia Feulgen pentru A.D.N.

Prepararea soluţiilor:

— *Acid clorhidric* N/1 (8,2 ml HCl, D=1,19 în 100 ml apă distilată).

— *Bisulfit de sodiu* ($NaHSO_3$) soluţie apoasă 10% sau metabisulfit de potasiu ($K_2S_2O_5$) soluţie apoasă 10%.

— *Reactiv Schiff.* Se dizolvă într-un balon cu dop rodat 1,5 g fucsină bazică (diamant) cristale, mojarată, în 200 ml apă distilată la fierbere; se răceşte la 60° şi se adaugă 1,5 g metabisulfit de potasiu (mojarat). După răcire la 20°, se adaugă 3 ml acid clorhidric concentrat (sau 30 ml HCl N/1). Se astupă cu dopul imediat, pentru ca să nu se degajeze bioxid de sulf şi se lasă la întuneric 12 ore. După acest interval reactivul se va decolora pînă la galben-pai. Se adaugă un vîrf de cuţit de cărbune animal, se agită puternic, se filtreaază, de preferinţă la pompa de vid. Reactivul se păstrează la rece şi întuneric o lună de zile. După acest timp nu mai este utilizabil.

— *Apă bisulfitată* pentru băile sulfuroase: se prepară în momentul utilizării din 10 ml acid clorhidric N/1 (1)+180 ml apă distilată+10 ml bisulfit de sodiu (2).

Tehnică. Secţiunile deparafinate şi hidratate sînt trecute din apă în:

Baie de acid clorhidric N/1 (pentru hidroliză), la termostat de 60°, timp de 15 minute.

Spălare rapidă în apă.

Trecere în reactiv Schiff, 30 de minute.

Clătire în 4 băi bisulfitate a cîte 3 minute.

Clătire în apă distilată.

Colorare rapidă a fondului cu verde de lumină (1 secundă).

Clătire în apă distilată.

Deshidratare.

Clarificare; montare.

Rezultate. A.D.N. se colorează în violet-albăstrui.

Notă. Proba de control se face lucrînd cu secţiuni în paralel, la cea de control înlăturînd hidroliza (punctul 1). Preparatele de control nu trebuie să prindă colorantul.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de lame cu secţiuni)

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum, sine As.*, D=1,18 p. a.	80 ml
Cod	1 298	*Acidum perjodicum* p. a.	1 g
Cod	11 783	*Natrium bisulfurosum meta purum* . .	17 g
Cod	19 626	*Fuchsin basicum*	1,5 g

4. EVIDENŢIEREA FOSFATAZEI ALCALINE

Metoda Gömöri

Fixarea pieselor se face în alcool-formol la rece (80 ml alcool absolut + 20 ml formol 10%), timp de 24 de ore. Includere la parafină.

Prepararea soluţiilor

a) *Soluţie substrat* compusă din:
10 ml soluţie 2% medinal,
10 ml soluţie 2% β-glicerofosfat de sodiu,
20 ml soluţie 2% clorură de calciu,
1 ml soluţie 5% sulfat de magneziu,
5 ml apă distilată.
b) Nitrat de calciu 2%.
c) Nitrat de cobalt 2%.
d) Sulfură de amoniu 2%.
e) Verde de lumină soluţie 1%.

Tehnică. Piesele fixate (18—24 de ore) se deshidratează în 3 băi de alcool absolut, a cîte 1 oră fiecare ; se trec apoi în 3 băi de toluol de cîte 30 de minute fiecare ; parafinare în 3 băi de parafină, a cîte 30 de minute fiecare ; includere, secţionare.

Secţiunile deparafinate şi hidratate sînt trecute din apă distilată în :

— incubare la termostat (37°), timp de 10—18 ore (după ţesut), în soluţia substrat ;

— clătire în apă distilată ;

— tratare în nitrat de calciu 2%, timp de 5 minute ;

— după scurgerea lamei de nitrat de calciu, se tratează cu soluţie nitrat de cobalt 2%, timp de 5 minute ;

— spălare în apă distilată ;

— tratare în soluţie sulfură galbenă de amoniu, timp de 1—4 minute (pînă se înnegreşte ; fosfatul de cobalt trece în sulfit de cobalt) ;

— spălare în apă distilată ;

— colorare în contrast cu soluţie verde de lumină ;

— deshidratare ; montare în balsam de Canada.

Rezultate. Regiunile cu fosfataze apar cu precipitate negre-brune.

Reactivi necesari (pentru 100 de lame cu secţiuni)

Cod	5 036 +)	*Calcium chloratum* pt. a.	4 g
Cod	5 105 +)	*Calcium nitricum* pt. a.	5 g
Cod	5 784 +)	*Cobaltum nitricum oxydatum* p. a. . .	5 g

Cod 10 741 A	*Magnezium sulfuricum* pt. a.	1 g
Cod 11 920	5-5 *Natrium diaethylbarbituricum* p. a.	4 g
Cod 11 978	*Natrium glicerophosphoricum beta* p. a.	6 g
Cod 20 021	*Licht grün S*	1 g
	Polisulfură de amoniu concentrat . . .	5 ml

5. EVIDENȚIEREA FOSFATAZEI ACIDE

Prepararea soluțiilor

Substratul de includere :

— soluție tampon acetat . . . . . 2,5—3,5 părți
— soluție azotat de Pb 5% . . . . . 1 parte
— apă distilată . . . . . 6 părți
— β-glicerofosfat de sodiu soluție 2% . . 3 părți

Se poate păstra la rece cîteva luni. Înainte de întrebuințare se diluează cu 2—3 părți de apă distilată și se încălzește la termostat (37°).

Soluție tampon de acetat (pH=4,7—5,3) :

— soluție molară CH_3COONa (13,6%) . . . . . 100 ml
— soluție molară CH_3COOH (6%) . . . . . 100 ml

Tehnică. Fragmente subțiri (1—2 mm) se fixează în acetonă rece, timp de 24 de ore, apoi la temperatura camerei, 24 de ore. Se va schimba fixatorul de cîteva ori.

Includere : 3 băi toluol, 3 băi parafină, blocul se lasă 18 ore la frigider.

Secțiunile (de 6—8 microni) lipite pe lamă se deparafinează și se deshidratează.

Incubare la termostat (37°) în substrat, timp de 3—24 de ore.

Spălare rapidă în apă distilată.

Îndepărtarea precipitatelor cu soluție 2—3% de acid acetic.

Spălare în apă distilată.

Trecere în soluție de sulfit de sodiu sau amoniac (Roschin) timp de 1—2 minute.

Spălare prelungită cu apă distilată.

Colorare de contrast cu verde de lumină.

Deshidratare ; clarificare ; montare.

Rezultate. Se observă un precipitat de fosfat de Pb, sub formă de granule de culoare închisă. Sînt posibile reacții complementare de contrast.

Reactivi necesari (pentru colorarea a 100 de secțiuni)

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	3 g
Cod 11 637	*Natrium aceticum anhydricum* p. a. .	8 g
Cod 11 978	*Natrium glicerophosphoricum beta* p. a.	4 g
Cod 14 216 +)	*Plumbum nitricum* pt. a.	2 g

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL al VII-lea

EXAMENE MEDICO-JUDICIARE

Scanned with OKEN Scanner

EXAMENE MEDICO-JUDICIARE

I. DIAGNOSTICUL MEDICO-JUDICIAR AL PETELOR DE SÎNGE

	Pag.
1. Punerea în evidenţă a sîngelui	407
a) metoda Bertrand	407
b) metoda de punere în evidenţă a peroxidazelor	407
2. Diagnosticul originii (speciei) petelor de sînge	408
metoda Cistovici—Uhlenhuth	408
3. Determinarea grupei sanguine	409
metoda Lendsteiner—Richter modificată de Lattes	409
4. Locul de proveniență a petelor de sînge	409

II. EXAMENUL PETELOR DE SPERMĂ

1. Reacţia Florence	410
2. Examenul pe frotiuri colorate	410

Scanned with OKEN Scanner

I. DIAGNOSTICUL MEDICO-JUDICIAR AL PETELOR DE SÎNGE

1. PUNEREA ÎN EVIDENȚĂ A SÎNGELUI

a) *Metoda Bertrand*

Reactivi : clorură de magneziu cristalizată ; acid acetic cristalizabil.

Prepararea soluției. Reactivul Bertrand se prepară astfel : 1 g clorură de magneziu cristalizată se dizolvă într-un mililitru de apă distilată. Se adaugă 5 g glicerină (30°) și 20 g acid acetic cristalizabil.

Tehnică. Pe o lamă se pun mici fragmente din pată, se adaugă 1—2 picături din reactivul de mai sus și se acoperă cu o lamelă. Lama astfel pregătită se trece peste o flacără, pînă apar primele bule de fierbere. Se mai adaugă, pe sub lamelă, o picătură de reactiv și se cercetează la microscop.

Rezultate. Cristalele de hemină (cristalele Teichmann), care apar în cîmpul microscopic, au culoare vișinie-brună, de forme rombice sau mai des forme de ace lungi. Ele sînt izolate sau grupate.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	20 ml
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	5 ml
Cod 10 627 +)	*Magnesium cloratum cryst.* p. a. . . .	1 g

b) *Metoda de punere în evidență a peroxidazelor*

Se utilizează curent în laboratoarele medico-judiciare, fiind simplă și rapidă.

Reactivi : reactiv Adler ; reactiv Guarino ; reactiv Kastle-Meyer.

Prepararea soluțiilor

Reactivul Adler este o soluție suprasaturată de benzidină în acid acetic glacial. O parte benzidină se pune într-o eprubetă, peste ea turnîndu-se aproximativ 3 părți acid acetic glacial. Se agită bine.

Reactivul Guarino : 1 parte dimetilanilină se dizolvă în 2 părți acid acetic glacial ; se adaugă apă distilată, 200 de părți.

Reactivul Kastle-Meyer : 1 parte fenolftaleină+10 părți hidroxid de potasiu+10 părți pudră de zinc, peste acestea turnîndu-se 50 de părți apă distilată.

Tehnică. Crusta de pată sau pata cu suport se lasă la macerat în ser fiziologic de la cîteva minute pînă la 1—2 ore (depinde de cantitatea de sînge și de vechimea petei). În practică se apreciază că maceratul este bun de examinat din momentul cînd începe să capete culoare gălbuie sau maroniu deschis. Reacția se face pe o placă cu godeuri. Se aleg trei godeuri curate, în care se pun cîte 2—3 picături de apă oxigenată (10%); în primul godeu se adaugă 2—3 picături din reactivul Adler, în al doilea 2—3 picături din reactivul Guarino și în al treilea aceeași cantitate de reactiv Kastle-Meyer. În fine, peste aceste combinații se pun cîte 2—3 picături din macerat.

Rezultate. În cazul cînd pata este de sînge, în godeul în care am pus reactiv Adler, lichidul de reacție va căpăta o culoare albastră (mai închisă sau mai deschisă, în funcție de cantitatea de sînge din pată) ; la locul reacției cu reactivul Guarino vom obține culoarea galbenă, iar cu reactivul Kastle-Meyer culoarea roșie.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	15 ml
Cod 3 895	*Bensidinum* p. a.	5 g
Cod 6 733	*Dimethylanilinum* p. a.	0,10 g
Cod 8 859	*Hydrogenum peroxydatum* 30% p. a. .	5 ml
Cod 9 670	*Kalium hydricum in rotulis purum* . .	5 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum cryst.* chimic pur	1 g
Cod 17 340	*Zincum metallicum pulvis* p. a. . . .	5 g
Cod 20 482	*Phenolphtaleinum*	0,5 g

2. DIAGNOSTICUL ORIGINII (SPECIEI) PETELOR DE SÎNGE

Metoda Cistovici-Uhlenhuth (metodă biologică)

Reactivi : ser precipitant antiom (titru de 1 : 10 000—1 : 20 000 sau 1 : 30 000).

Tehnică. Din pată se face un macerat ca mai sus, din care se pun 6—8 picături într-o eprubetă foarte subțire (dacă este posibil, eprubetă capilară). Cu o altă pipetă se introduce în fundul eprubetei o cantitate aproximativ egală de ser precipitant. Se lasă 5—15 minute (sau mai mult).

Rezultate. La limita de separație dintre cele două lichide va apărea un inel îngust de precipitare, fumuriu : acesta denotă originea umană a sîngelui din pată.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene) :

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum cryst.* chimic pur	1 g
	Ser precipitant antiom	30 ml (30 de fiole a 1 ml)

Scanned with OKEN Scanner

3. DETERMINAREA GRUPEI SANGUINE

Metoda Lendsteiner-Richter, modificată de Lattes

(cercetarea aglutininelor din petele de sînge)

Tehnică. Într-o eprubetă se pun 2—3 picături de hematii test din grupa A (II), peste ele turnîndu-se ser fiziologic pînă se obţine o culoare roz-palidă. În altă eprubetă se pun hematii test din grupa B (III), procedîndu-se ca mai sus. Pe o lamă de microscopie se pune, în stînga, o mică porţiune din crustă sau fragment de suport cu pată, peste aceasta punîndu-se 1—2 picături din soluţia diluată de hematii A (II). În dreapta lamei se pune o altă porţiune din crustă sau fragment de suport cu pată, peste ea punîndu-se 1—2 picături soluţie diluată de hematii B (III). Ambele preparate se acoperă cu cîte o lamelă. Se notează lama astfel ca să nu se inverseze poziţia preparatelor şi se lasă la o parte 5—10 minute. Se face examenul la microscop.

Rezultate. Dacă vom observa aglutinări în porţiunea în care am pus hematii A (II) şi nu vom obţine acelaşi lucru în partea opusă unde am pus hematii B (III), înseamnă că sîngele din pată aparţine grupei B (III). Dacă, din contră, obţinem aglutinare numai la nivelul crustei unde am pus hematii B (III), înseamnă că sîngele din pată face parte din grupa A (II). Dacă vom obţine aglutinări în ambele locuri, sîngele cercetat aparţine grupei O (I). Dacă nu vom obţine aglutinări la nici una din cruste, sîngele aparţine grupei AB (IV), deci sîngele nu conţine aglutinine.

Este de reţinut însă că în acest din urmă caz va trebui să fim foarte circumspecţi în interpretarea rezultatului, deoarece aglutininele se pot distruge cu timpul şi uneori chiar destul de uşor sub influenţa unor factori de mediu (umezeală, căldură etc.). De asemenea nu trebuie uitat că la copii, aglutininele nu apar în sînge decît la vîrsta de aproximativ 6 luni. Avînd în vedere consecinţele unui rezultat eronat, este de preferat ca în cazul cînd nu am obţinut aglutinări, să dăm rezultatul ca atare şi nu că sîngele aparţine sigur grupei AB (IV).

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 11 860 +) *Natrium chloratum cryst.* chimic pur 1 g

4. LOCUL DE PROVENIENŢĂ A PETELOR DE SÎNGE

Reactivi. Soluţie hematoxilină-eozină.

Tehnică. În afară de sînge, într-o pată se pot găsi uneori şi elemente din ţesutul lezat (celule, peri etc.), deci tehnica va consta din punerea în evidenţă a acestora.

Frotiurile se colorează cu hematoxilină-eozină.

Rezultate. Sîngele de proveniență genitală feminină va prezenta elemente vaginale din col şi uneori din mucoasa uterină. În petele obstetricale se vor găsi : meconiu, resturi placentare, sebum etc.

Scanned with OKEN Scanner

Petele de sînge de origine respiratoare (nas, căi respiratoare) pot prezenta celule cilindrice cu cili vibratili, mucus şi chiar fire de păr.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a.	10 ml
Cod 12 055	*Natrium iodicum* p. a.	0,30 g
Cod 19 435	*Eosin blau spiritus solubile Y. S.*	1 g
Cod 19 439	*Eosin gelb aqua solubile*	1 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	1 g
Cod 20 378	*Orange G.*	0,25 g

II. EXAMENUL PETELOR DE SPERMĂ

1. REACŢIA FLORENCE

Reactivi : reactiv Florence.

Prepararea reactivului. 1,56 g iodură de potasiu+2,54 g iod metaloid se dizolvă în 30 ml apă distilată.

Tehnică. Se face un macerat din pată şi se pun 1—2 picături din macerat în mijlocul lamei. Peste acestea se pun 1—2 picături reactiv Florence. Se acoperă cu o lamelă şi se lasă 5 minute, după care se examinează la microscop.

Rezultate. Cristalele Florence, care apar în cazul cînd pata este de spermă, au o formă romboidală sau de vîrfuri de lance, de culoare maron-deschisă.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 9 373	*Iod metalicum purum*	2,54 g
Cod 9 695	*Kalium iodatum* p. a.	1,56 g

2. EXAMENUL PE FROTIURI COLORATE

Tehnică. Colorarea frotiurilor se face cu hematoxilină-eozină.

Rezultate. Spermatozoizii se colorează în roşu-cărămiziu, iar restul elementelor din cîmp în albastru.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a.	10 ml
Cod 12 055	*Natrium iodicum* p. a.	0,30 g
Cod 19 435	*Eosin blau spiritus solubile Y. S.*	1 g
Cod 19 439	*Eosin gelb aqua solubile*	1 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	1 g
Cod 20 378	*Orange G.*	0,25 g

Scanned with OKEN Scanner

CAPITOLUL al VIII-lea

CONTROLUL SANITAR AL ALIMENTELOR, BĂUTURILOR ŞI AERULUI

Scanned with OKEN Scanner

CONTROLUL SANITAR AL ALIMENTELOR, BĂUTURILOR ŞI AERULUI

I. CONTROLUL SANITAR AL ALIMENTELOR ŞI BĂUTURILOR

Pag.

A. *Controlul sanitar al apei potabile* 415
1. *Recoltarea apei* 415
a) pentru examene bacteriologice 415
b) pentru examene chimice 415
2. *Examen bacteriologic* 416
a) determinarea numărului de germeni 416
b) determinarea numărului de germeni din grupul *Coli* . . 416
3. *Examene chimice de control* 417
a) determinarea amoniacului 417
b) determinarea azotaţilor 418
c) determinarea azotiţilor 418
d) determinarea clorurilor 419
e) determinarea durităţii 420
f) determinarea substanţelor organice 420

B. *Controlul sanitar al alimentelor* 421
1. *Recoltarea probelor de alimente* 421
2. *Analiza cărnii şi a derivatelor de carne* 422
a) examenul organoleptic 422
b) examenul chimic de control 422
— identificarea amoniacului 422
— identificarea hidrogenului sulfurat 422
— identificarea peroxidazei 423
c) examenul bacteriologic 423
3. *Analiza derivatelor de carne* 423
a) examenul organoleptic 423
— determinarea azotiţilor 424
b) examenul bacteriologic 424
4. *Analiza peştelui şi preparatelor de peşte* 424
a) examenul fizic 424

Scanned with OKEN Scanner

Pag.

b) determinarea reacţiei 424
c) determinarea amoniacului 425

5. *Analiza laptelui şi a derivatelor* 425

a) recoltarea probelor 425
b) examenul bacteriologic 425
c) probe biochimice de prospeţime 426
d) controlul pasteurizării 427
e) controlul laptelui praf 427

6. *Controlul conservelor de legume şi fructe* 428

a) proba de ermeticitate 428
b) proba de termostatare 428

7. *Analiza grăsimilor şi uleiurilor comestibile* 428

a) examen organoleptic 428
b) identificarea apei 428
c) identificarea săpunului 428
d) determinarea indicelui de peroxid 429

8. *Analiza făinii, pîinii şi pastelor făinoase* 429

a) cercetarea infestării 429
b) cercetarea paraziţilor vegetali 429
c) determinarea acidităţii 430
d) determinarea umidităţii 430
e) determinarea glutenului umed 430

9. *Controlul băuturilor alcoolice* 431

a) determinarea concentraţiei alcoolice 431
b) determinarea alcoolilor superiori 431
c) determinarea alcoolului metilic 431
d) determinarea substanţelor colorante artificiale 432

II. CONTROLUL SANITAR AL AERULUI

A. *Recoltarea şi analiza prafului din mediul aerian* 432

1. *Recoltarea pulberilor* 432

a) prin sedimentare 432
b) determinarea prafului atmosferic prin aspiraţie 433

2. *Cercetarea bioxidului de siliciu* 433

B. *Analiza chimică a aerului atmosferic* 433

1. Recoltarea probelor 433
2. Determinarea bioxidului de sulf 434
3. Determinarea clorului liber 434
4. Determinarea hidrogenului sulfurat 435
5. Determinarea oxizilor de azot 435
6. Determinarea sulfurii de carbon 436
7. Determinarea bioxidului de carbon 437

Scanned with OKEN Scanner

I. CONTROLUL SANITAR AL ALIMENTELOR ŞI BĂUTURILOR

A. CONTROLUL SANITAR AL APEI POTABILE

1. RECOLTAREA APEI

1. *Recoltarea apei* pentru controlul curent al surselor de apă.

a) Pentru *examene bacteriologice.* Probele se recoltează în sticle sterilizate la 180° timp de 1 oră, avînd capacitatea de 100—500 ml.

Recoltare :

— de la reţeaua de distribuţie, se va alege un robinet racordat direct în reţea. Robinetul se va curăţi, se va deschide şi se va lăsa să curgă 10—15 minute, după care se va reduce debitul şi se va umple butelia ;

— din cursuri de apă, rezervoare, lacuri, izvoare sau fîntîni, probele se vor lua de la locul de captare.

b) Pentru *examene chimice.* Se recoltează apa în sticle de 1 litru, spălate şi clătite în prealabil cu apă de la sursa respectivă.

De la reţeaua de aprovizionare centrală, proba se va recolta după ce apa a fost lăsată să curgă 10 minute.

Din fîntîni cu pompă, proba se va recolta după ce apa s-a pompat timp de 20 de minute.

Din fîntîni cu găleată, se va recolta proba de la adîncimea de 10—30 cm sub nivelul apei.

Sticlele cu probele de apă vor fi însoţite de o fişă în care să se menţioneze următoarele : numele şi calitatea persoanei care a luat proba, localitatea şi denumirea sursei de apă, scopul în care se utilizează apa, data şi ora recoltării şi scopul analizei. Se va face şi o descriere a caracterelor sursei de apă şi a instalaţiilor de captare.

Pentru controlul preventiv se vor efectua toate analizele indicate în STAS 1 342/61.

Pentru controlul curent se vor efectua numai următorii indicatori de impurificare a apei :

a) indicatori bacteriologici : determinarea numărului total de germeni şi colimetria ;

Scanned with OKEN Scanner

b) indicatori chimici : determinarea azotaţilor, determinarea azotiţilor, determinarea amoniacului, determinarea substanţelor organice, a clorului şi a durităţii.

2. EXAMEN BACTERIOLOGIC

a) *Determinarea numărului de germeni*

Flaconul cu apă de cercetat se agită, răsturnîndu-se de 20 de ori. Cu o pipetă sterilă se introduc în 2 cutii Petri cîte 1 ml şi în alte două cîte 0,1 ml apă de cercetat. Se toarnă în cutii geloză topită şi răcită la 45°. Se agită conţinutul şi după răcire se incubează la termostat timp de 24 de ore, cu capacul în jos. Numărul total de germeni este dat de numărul coloniilor crescute pe suprafaţa şi în interiorul gelozei. Dacă cutiile conţin 100 de colonii, se numără în totalitate. Dacă conţin mai mult de 100, se numără pe sectoare. Dacă conţin peste 300, plăcile respective nu vor fi luate în calcul. Se face media citirilor şi se exprimă numărul de colonii obţinut pentru 1 ml apă.

Pentru sursele de aprovizionare centrală cu apă, din colectivităţile mari, se admit pînă la 20 de germeni/ml ; pentru sursele care aprovizionează colectivităţi mai mici se admit pînă la 100 de germeni/ml, iar pentru fîntînile izolate se admit pînă la 300 de germeni/ml.

b) *Determinarea numărului de germeni din grupul Coli*

Testul prezumtiv. Se însămînţează apa de cercetat în eprubete cu bulion lactozat, cu tub de fermentare. Pentru apa din instalaţii centrale se însămînţează două porţiuni de cîte 100 ml apă de cercetat în 100 ml bulion lactozat şi 10 porţiuni de cîte 10 ml de cercetat în 10 ml bulion lactozat. Se incubează 24 de ore la termostat şi se citesc rezultatele, considerîndu-se pozitive tuburile în care au crescut germeni, cu producere de gaz. Rezultatele se apreciază prin calcul sau după următorul tabel :

Numărul de tuburi pozitive de		Numărul probabil de bacili coli la 1 litru	Numărul de tuburi pozitive		Numărul probabil de bacili coli la 1 litru
100 ml	10 ml		100 ml	10 ml	
0	0	sub 3	1	6	36
0	1	3	1	7	43
0	2	7	1	8	51
0	3	11	1	9	60
0	4	14	1	10	69
0	5	18	2	0	11
0	6	22	2	1	18
0	7	27	2	2	27
0	8	31	2	3	38
0	9	36	2	4	52
0	10	40	2	5	70
1	0	4	2	6	92
1	1	8	2	7	120
1	2	13	2	8	161
1	3	18	2	9	230
1	4	24	2	10	peste 230
1	5	30			

Scanned with OKEN Scanner

Testul de confirmare. Pentru a se preciza dacă fermentarea a fost produsă de bacili coli, se fac treceri pe mediul Lévine. Dacă s-a produs creşterea caracteristică, se consideră confirmată prezenţa bacililor coli.

Pentru instalaţiile centrale de apă din colectivităţile mari, se admit pînă la 3 bacili coli la 1 litru de apă.

Pentru colectivităţile mijlocii se admit pînă la 10 bacili coli la litru de apă, iar pentru fîntînile din mediul rural se admit pînă la 100 de bacili coli la 1 litru de apă.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Geloză simplă 2% . . . . . 1 000 g
Mediu Lévine . . . . . 3 000 g
Bulion lactozat cu tub de fermentaţie . . . . . 3 000 ml

3. EXAMENE CHIMICE DE CONTROL

a) *Determinarea amoniacului*

Determinarea amoniacului se face conform STAS 6 328/961. Metoda cu clorură de amoniu.

Prepararea soluţiilor

— Reactiv Nessler: — tetraiodomercuriat bipotasic — se dizolvă 392 g tartrat dublu de sodiu şi potasiu în 748 ml apă, la care se adaugă 5,5 ml hidroxid de potasiu 30% şi 4,5 ml hidroxid de sodiu 30%. Se lasă în repaus 20 de zile.

— Soluţie etalon pentru clorură de amoniu: 0,297 2 g clorură de amoniu se dizolvă în apă şi se aduce la volum de 100 ml; 1 ml din această soluţie se diluează cu apă la 20 ml şi conţine 0,05 g amoniac.

Pregătirea scării de comparare. Soluţia etalon de clorură de amoniu se repartizează într-o serie de tuburi Nessler, conform tabelului de mai jos:

Soluţie etalon amoniac în ml	Apă în ml	Cantitate de amoniac la 1 litru
0	50	0
0,05	49,95	0,05
0,1	49,90	0,1
0,2	49,80	0,2
0,4	49,60	0,4
0,6	49,40	0,8
0,8	49,20	0,8
1	49	1

Tehnică. În fiecare tub se introduc cîte 2 ml soluţie tartrat de sodiu şi potasiu şi 2 ml reactiv Nessler. Scara de comparat se pregăteşte paralel cu proba de analizat. La 50 ml probă limpede şi incoloră se adaugă 2 ml soluţie de tartrat dublu de sodiu şi potasiu şi 2 ml soluţie Nessler. După 10 minute se compară cu scara. În mod normal, apa potabilă nu trebuie să conţină amoniac.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	2 945	*Ammonium chloratum anhydricum* p. a.	1 g
Cod	9 672	*Kalium hydricum in rotulis* p. a. . .	2 g
Cod	9 732 +)	*Kalium natrium tartaricum* p. a. . .	392 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	1 g
Cod	20 212	*Nessler reagent*	500 ml

b) *Determinarea azotaţilor*

Prepararea soluţiilor

— Acid fenoldisulfonic : 12 g fenol cristalizat se dizolvă în 144 g acid sulfuric concentrat. Amoniac 25%.

— Soluţie etalon pentru azotat : 1,631 g azotat de potasiu, uscat la 105°, se trece într-un balon cotat de 1 000 ml şi se aduce la semn cu apă distilată. 1 ml din această soluţie se diluează cu apă la 100 ml ; 1 ml din această soluţie diluată conţine 0,01 mg azotaţi.

Tehnică. 10 ml apă de analizat se evaporează într-o capsulă de porţelan pe baia de apă. Se procedează la fel cu o probă de 1 ml şi o probă de 10 ml soluţie etalon diluată pentru azotaţi. După răcire, se adaugă în fiecare capsulă 1 ml acid fenol disulfonic, amestecîndu-se pînă la dizolvare. După 15 minute se adaugă 5 ml apă şi 10 ml amoniac, apoi se aduce la volumul de 20 ml cu apă distilată. Se compară probele cu ajutorul colorimetrului.

$$\text{Azotaţi} = \frac{\text{înălţimea cuvei etalon, în mm}}{\text{înălţimea cuvei cu proba, în mm}}$$

În mod normal, se admit 10 mg azotaţi la 1 litru de apă.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	580	*Acidum carbolicum cryst. purum* . . .	120 g
Cod	1 518	*Acidum sulfuricum* (—N), D=1,83 p. a.	500 ml
Cod	2 883	*Ammonia liquida* p. a.	1 000 ml
Cod	9 736 +)	*Kalium nitricum* p. a.	2 g

c) *Determinarea azotiţilor*

Prepararea soluţiilor

Soluţie acetică de α-naftilamină : 1 g α-naftilamină se dizolvă în 50 ml apă la cald. Se filtrează într-un balon cotat de 200 ml şi se aduce la semn cu acid acetic 30%.

Soluţie acetică de acid sulfanilic : 1,6 g acid sulfanilic se dizolvă în 100 ml acid acetic 30%.

Soluţie etalon pentru azotiţi : 1,5 g azotit de sodiu se trece cantitativ într-un balon de 1 000 ml şi se aduce la semn cu apă. Soluţia se foloseşte proaspăt preparată ; 0,5 ml din această soluţie se diluează cu apă la 1 000 ml.

Scanned with OKEN Scanner

Pregătirea scării de comparare: soluția etalon pentru azotiți se repartizează într-o serie de eprubete colorimetrice și se completează cu apă conform tabelului:

Soluție etalon de azotiți diluată în ml	Apă în ml	Cantitatea de nitriți în mg/l
0,1	9,9	0,005
0,2	9,8	0,010
0,3	9,7	0,015
0,4	9,6	0,020
0,6	9,4	0,030
1	9	0,050
1,50	8,50	0,075
2	8	0,01

În eprubetele scării se adaugă 0,5 ml soluție α-naftilamină și 0,5 ml soluție acid sulfanilic.

Într-o eprubetă colorimetrică, identică cu cele din care este confecționată scara, se introduc 10 ml apă de analizat, la care se adaugă 0,5 ml soluție de α-naftilamină și 0,5 ml soluție acid sulfanilic. După 20 de minute se compară proba cu scara.

În apa potabilă nu este admisă prezența nitriților.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 139 *Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . . 500 ml
Cod 242 A *Acidum amino benzol sulfonicum para* pt. a. . . . . 6 g
Cod 11 588 *α-naphtylaminum* p. a. . . . . 3 g
Cod 12 116 +) *Natrium nitricum* p. a. . . . . 150 g

d) *Determinarea clorurilor*

Se efectuează conform STAS 3 049/52.

Metoda cu cromat de potasiu: 100 ml apă de analizat se introduc într-un vas conic de 250 ml și se neutralizează cu hidroxid de potasiu sau cu acid sulfuric în prezența de roșu neutru. Se ia o altă probă de 100 ml de apă, la care se adaugă exact cantitatea de hidroxid de potasiu sau acid sulfuric, stabilită pentru neutralizare. Se adaugă 1 ml cromat de potasiu 10% și se titrează cu azotat de argint soluție N/10, pînă la apariția unei culori roșietice; 1 ml azotat de argint N/10 corespunde la 3,546 mg clor.

Se admit 200 mg cloruri la litru.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 1 518 *Acidum sulfuricum* D=1,83 (—N) p. a. 100 ml
Cod 3 431 *Argentum nitricum* p. a. . . . . 100 g
Cod 9 614 *Kalium chromicum* p. a. . . . . 10 g
Cod 9 672 *Kalium hydricum in rotulis* p. a. . . . 10 g

Scanned with OKEN Scanner

e) *Determinarea durității*

Se efectuează conform STAS 3 026/52.

Duritatea totală.

Reactivi :

— acid clorhidric N/10

— amestec de carbonat de sodiu N/10 și hidroxid de sodiu N/10 în părți egale

— metil-oranj soluție apoasă 0,05%.

Tehnică. 200 ml apă de analizat se introduc într-un pahar de 300 ml și se acidulează cu acid clorhidric în prezența a 2—3 picături de metil-oranj pînă la culoarea roșie. Soluția se evaporă pînă la un volum de 50 ml și se neutralizează cu hidroxid de sodiu. În soluția neutralizată se adaugă 50 ml de amestec alcalin. Se fierbe, se răcește, se trece într-un balon de 200 ml și se aduce la semn cu apă. Se filtrează într-un vas uscat. Primii 50 ml filtrați se aruncă, iar din filtratul rămas, care trebuie să fie perfect limpede, se iau 100 ml și se titrează cu acid clorhidric pînă la virajul galben-portocaliu ; 1 ml acid clorhidric N/10 corespunde la 2,8 mg oxid de calciu. Duritatea totală = 2,8. (25-V) (V = ml acid clorhidric N/10 utilizați în titrare).

Se admite, conform STAS, duritatea maximă de cel mult 12 grade pentru 1 litru de apă.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	100 ml
Cod 11 847 +)	*Natrium carbonicum siccum* pt. a.	100 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	100 g
Cod 20 370	*Orange* III	0,1 g

f) *Determinarea substanțelor organice*

Se efectuează conform STAS 3 002-61.

Reactivi : acid oxalic soluție 0,01 N preparat într-un balon cotat, în care s-au adăugat 5 ml acid sulfuric 1 : 3 ; permanganat de potasiu 0,01 N ; acid sulfuric 1 : 3, tratat cu permanganat pînă la apariția culorii slab-roz ; hidroxid de sodiu 30%.

Tehnică. 100 ml apă de analizat se introduc într-un vas Erlenmeyer de 300 ml. Se aduce la fierbere și se adaugă 5 ml de acid sulfuric, apoi 10 ml permanganat de potasiu și se continuă fierberea încă 10 minute. La soluția fierbinte se adaugă 10 ml acid oxalic. Soluția decolorată se titrează apoi cu permanganat pînă la coloratia slab roz persistentă.

Calcul

Substanțe organice = $(V+V_1)—V_2 \cdot 3{,}16$ mg la litru.

V = volumul de permanganat adăugat inițial, în ml ;

V_1 = volumul de permanganat utilizat la titrare ;

V_2 = volumul de acid oxalic utilizat.

Conform STAS-ului se admite o cantitate de 3 mg permanganat la litru pentru apele subterane și de 10 mg permanganat la litru pentru apele de suprafață.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 1 249	*Acidum oxalicum* p. a.	100 g
Cod 1 518	*Acidum sulfuricum* D=1,83 (—N) p. a.	100 g
Cod 9 767	*Kalium permanganicum* p. a.	316 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	100 g

B. CONTROLUL SANITAR AL ALIMENTELOR

1. RECOLTAREA PROBELOR DE ALIMENTE

Recoltarea şi expedierea probelor alimentare în vederea efectuării examenului bacteriologic şi chimic se efectuează respectîndu-se indicaţiile din STAS. În lipsa acestora, se va ţine seama de următoarele indicaţii :

— probele trebuie să fie reprezentative : se vor recolta probe din diferite ambalaje, apoi se vor amesteca şi din acest amestec se va lua proba pentru analiza de laborator ;

— se vor recolta 2 probe identice : una pentru analiza de control care se va trimite la laborator, alta pentru contraexpertiză care se va lăsa la depozitul respectiv ;

— pentru controlul alimentelor care se alterează uşor, se va recolta o singură probă ;

— probele se vor ambala în borcane de sticlă curate sau în pungi, apoi se vor sigila şi se vor eticheta. Pe etichetă se va specifica unitatea de la care s-a ridicat proba, felul produsului, data recoltării, numărul procesului verbal de recoltare şi semnătura organului care a executat recoltarea ;

— se va întocmi un proces verbal de recoltare după normele existente, iar un exemplar din acest proces verbal se va expedia împreună cu proba la laborator ;

— expedierea se va face prin curier sau prin poştă, după ce probele au fost ambalate în cutii de lemn ;

— cantităţile minimale de alimente necesare examenelor de laborator :

Ape gazoase, limonade 1 sticlă.
Gheaţă (apă provenită din topirea gheţii) 1 litru.
Lapte 300—500 ml.
Lapte sterilizat 1 sticlă.
Lapte praf 1 cutie.
Brînzeturi 250 g.
Grăsimi alimentare solide 250 g.
Uleiuri comestibile 500 g.
Cereale şi leguminoase 500 g.
Făinuri 250 g.
Pîine 1 pîine.
Paste făinoase 250 g sau 1 caşet.
Orez 250 g.
Carne şi preparate de carne 250 g sau 1 cutie.
Fructe, legume, ciuperci 500 g.
Conserve alimentare şi peşte 1 cutie sau 500 g.
Ouă 6—10 bucăţi.
Zahăr, miere, produse de cofetărie 250 g.
Sucuri de fructe, siropuri 1 sticlă.
Băuturi alcoolice 1 sticlă.

Scanned with OKEN Scanner

2. ANALIZA CĂRNII ŞI A DERIVATELOR DE CARNE

a) *Examenul organoleptic*

Carnea alterată are aspect uscat sau umed şi lipicios, deseori este acoperită cu pete de mucegai. Grăsimea are aspect mat şi coloraţie cenuşie-murdară. Produsele au miros şi gust de rîncezeală. Tendoanele sînt moi, cenuşii, umede şi acoperite cu mucus abundent. Lichidul sinovial este tulbure. Culoarea este cenuşie sau verzuie. Consistenţa este modificată. Mirosul este modificat, atît la suprafaţă cît şi în straturi profunde.

Mirosul impropriu sau neplăcut al cărnii se identifică în mod mai precis prin proba fierberii. Se iau cîte 150 g carne din straturile superficiale şi din cele profunde, se taie în bucăţi şi se fierb într-un vas acoperit. Cînd apa începe să fiarbă, se descoperă vasul, se miroase vaporii şi se gustă carnea.

b) *Examenul chimic de control*

Identificarea amoniacului (Nessler)

Prepararea soluţiilor

5 g iodură de potasiu se dizolvă în 5 ml apă distilată fierbinte. Se adaugă soluţie concentrată fierbinte de clorură mercurică, pînă cînd precipitatul care se formează nu se mai dizolvă. După răcire, soluţia se decantează într-un balon cotat de 100 ml. Se adaugă 15 g hidroxid de potasiu dizolvat în 30 ml apă şi se aduce la semn cu apă. Se adaugă 0,5 ml soluţie concentrată de clorură mercurică, se lasă să se depună precipitatul şi se separă soluţia clară prin decantare. Reactivul nu se utilizează dacă se colorează sau se tulbură.

Tehnică. Într-o eprubetă se introduce 1 ml extract de carne de cercetat şi se adaugă agitîndu-se 1—10 picături de reactiv. Extractul de carne proaspătă nu se tulbură şi nici nu se colorează în galben. Carnea relativ proaspătă dă un uşor precipitat dacă i se adaugă minimum 6 picături de reactiv. Cînd carnea este alterată, se produc îngălbenirea şi tulburarea bruscă după adăugarea primelor picături de reactiv, cu formare de precipitat galben-portocaliu.

Prepararea extractului de carne

Din probele supuse examinării se prepară extracte separate pentru fiecare probă. Se curăţă carnea de grăsimi şi ţesut conjunctiv şi se taie în bucăţi mărunte. Se iau 50 g carne tăiată şi se introduc într-un vas cu 100 ml apă distilată. Se lasă să stea 10 minute, agitîndu-se de 3 ori.

Extractul se separă prin decantare.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 8 716 A *Hydrargyrum bichloratum cryst.* p. a. 3 g
Cod 9 672 *Kalium hydricum in rotulis* p. a. . . . 15 g
Cod 9 695 b *Kalium iodatum* p. a. . . . . 5 g

Identificarea hidrogenului sulfurat

Tehnică. Într-un cilindru de sticlă de 100 ml cu dop şlefuit se introduc bucăţi mici din carnea de analizat pînă la 1/3 din volumul lui. Se

Scanned with OKEN Scanner

introduce o hîrtie de filtru imbibată în prealabil în acetat de plumb 10% şi uscată şi se fixează cu ajutorul dopului. Se lasă să stea 15 minute la temperatura camerei. Prezenţa hidrogenului sulfurat se detectează prin colorarea hîrtiei de la brun-deschis pînă la negru.

Carnea proaspătă nu conţine hidrogen sulfurat.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 14 146 +) *Plumbum aceticum* pt. a. . . . . 10 g

Identificarea peroxidazei

Tehnică. Într-o eprubetă se iau 2 ml extract de carne, apoi se introduc 5 picături de soluţie alcoolică-benzidină 0,2%. Se agită şi se adaugă 2 picături de apă oxigenată 1%. Reacţia se consideră pozitivă dacă în cel puţin 30 de secunde şi cel mult 2 minute apare o coloraţie albastră-verzuie, care trece în brun închis. Carnea proaspătă dă reacţie negativă.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 3 895 *Benzidinum* p. a. . . . . 0,50 g
Apă oxigenată . . . . . 300 ml

c) *Examenul bacteriologic*

Examenul bacteriologic se efectuează numai la cererea organelor sanitare. Se urmăreşte punerea în evidenţă a contaminării cărnii cu germeni patogeni.

Punerea în evidenţă a germenilor patogeni se va efectua conform tehnicilor indicate în STAS 2 356/51 sau după tehnicile indicate la capitolul al III-lea — Examene bacteriologice.

3. ANALIZA DERIVATELOR DE CARNE

Controlul derivatelor de carne se efectuează conform STAS 961/56.

Pentru examene de control curent în vederea stabilirii stării de prospeţime sau alterare, se efectuează următoarele examene :

a) *Examenul organoleptic*

— Mezelurile proaspete şi semiafumate, alterate, au învelişul acoperit cu mîzgă sau mucegai, învelişul se desface uşor. Stratul periferic este înmuiat. Sub înveliş se găseşte mucegai sau larve de muşte. Compoziţia este afînată, slănina sau grăsimea prezintă culoarea galbenă-verzuie. Mirosul este putrid, iar slănina prezintă miros rînced.

— Salamurile afumate alterate au acelaşi aspect, mirosul fiind acru, neplăcut sau putrid.

— Toba, preparatele cu sînge cu compoziţie moale, alterate, au pete cenuşii-verzui, miros acru sau putrid şi uneori larve de muşte.

Scanned with OKEN Scanner

Produsele care prezintă aspectele enumerate se consideră vădit alterate şi nu se mai execută alte examene.

Pentru produsele suspecte de alterare se efectuează indicatori chimici de alterare, ca :

Determinarea azoţilor. Reactivi necesari : reactiv cu α-naltilamină, acid sulfanilic, STAS 4 000/53 ; soluţie etalon pentru azotiţi STAS 3 727/53 (vezi determinarea azotiţilor în apă).

Tehnică. 10 g din proba pregătită prin mojarare se macerează într-un pahar de laborator cu 100 ml apă, timp de 40 de minute. Se amestecă din 10 în 10 minute cu o baghetă. Se trec într-un cilindru de comparare 10 ml macerat filtrat şi se adaugă 5 ml reactiv cu α-naftilamină. Apariţia unei coloraţii roşie indică prezenţa azotiţilor. Intensitatea coloraţiei nu trebuie să fie mai mare decît aceea obţinută într-un cilindru de comparare identic, care conţine în acelaşi volum o cantitate de soluţie etalon pentru azotiţi egală cu cea prescrisă în standardul produsului respectiv. Compararea se face ţinînd cilindrul în baie de apă la 60° şi privind de sus în jos pe fond alb.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a.	500 ml
Cod	242 a	*Acidum amino benzol sulfonicum para* p. a.	3 g
Cod	11 588	*α-naphtylaminum* p. a.	3 g
Cod	12 116 +)	*Natrium nitricum* p. a.	150 g

b) *Examenul bacteriologic*

Examenul bacteriologic se efectuează la cererea organelor sanitare şi se va face conform STAS 961/56 sau conform indicaţiilor de la Capitolul al III-lea — Bacteriologie.

4. ANALIZA PEŞTELUI ŞI PREPARATELOR DE PEŞTE

a) *Examenul fizic.* Peştele proaspăt trebuie să corespundă următoarelor condiţii :

— Ochii : limpezi, bulbucaţi, cu corneea transparentă sau eventual uşor mată.

— Bronhiile : roşii de sînge, fără miros şi mucozităţi.

— Solzii : lucioşi şi bine fixaţi.

— Muşchii : bine legaţi de coloana vertebrală şi de coaste.

— Viscerele : fără lichid între viscere şi cu miros caracteristic.

— Consistenţa cărnii : tare şi elastică.

În cazuri dubioase se vor executa indicatori chimici de alterare, conform STAS 3 104/52.

b) *Determinarea reacţiei.* Se face o crestătură adîncă în corpul peştelui şi se introduc 2 bucăţi hîrtie de turnesol roşie şi albastră, umezite în prealabil cu apă. După 15 minute se scot bucăţile de hîrtie de turnesol şi se compară cu alte 2 bucăţi de hîrtie umezite cu apă distilată.

Scanned with OKEN Scanner

c) *Determinarea amoniacului.* **Reactivi.** Acid sulfuric N/10, roşu de metil soluţie 0,2% în alcool, oxid de magneziu calcinat.

Tehnică. 5 g din proba de cercetat se introduc într-un balon de distilare cu 150 ml apă şi 1 g oxid de magneziu. Se distilează cu refrigerent (descendent). Distilatul se titrează cu acid sulfuric N/10 în prezenţa roşului de metil; 1 ml acid sulfuric corespunde la 0,001 7 g amoniac.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 10 714	*Magnesium oxydatum pulvis* p. a. . .	200 g
Cod 18 106	*Acidum sulfuricum* N/10	1 000 ml
Cod 20 092	*Methyl rot cryst.*	0,20 g

5. ANALIZA LAPTELUI ŞI A DERIVATELOR

Controlul sanitar al laptelui şi derivatelor urmăreşte stabilirea stării de prospeţime, respectiv alterare a acestor produse, contaminarea cu germeni patogeni sau eventual falsificările.

Condiţiile sanitare ale laptelui sînt înscrise în STAS 143/61.

Conform prevederilor din STAS-ul menţionat, laptele pentru alimentaţie trebuie să aibă un aspect omogen, lipsit de impurităţi, culoare albă, uşor gălbuie, miros şi gust plăcut caracteristic, fără miros străin.

Controlul sanitar se efectuează conform STAS 6343/61.

a) *Recoltarea probelor* se face conform STAS 6349/61.

Probele se vor recolta în sticle cu dop de sticlă care au fost în prealabil sterilizate. Înainte de recoltare, produsul se va omogeniza prin agitare cu ajutorul unei linguri.

Laptele praf se va recolta cu ajutorul unor sonde curăţite şi dezinfectate înainte de utilizare. Se recoltează aproximativ cîte 50 g lapte praf din diverse nivele, iar probele se vor introduce într-un borcan steril.

Untul se va recolta cu ajutorul unei sonde sterile, luîndu-se probe din 2—3 puncte.

Brînzeturi: din brînzeturi se vor lua probe fie cu ajutorul sondei, fie prin decuparea unei porţiuni, fie prin recoltarea unei bucăţi întregi.

b) *Examenul bacteriologic.* Determinarea numărului total de germeni: din proba de lapte agitată de circa 25 de ori, se ia cu o pipetă 1 ml lapte şi se introduce în eprubete cu ser fiziologic steril, efectuîndu-se diluţii de 1/10, 1/100, 1/1 000, 1/10 000 şi 1/1 000 000. Din fiecare diluţie se introduce cîte 1 ml în cîte o cutie Petri sterilă, în care se toarnă apoi geloză topită şi răcită la 45°. Se omogenizează conţinutul, apoi după răcire se incubează la termostat. După 48 de ore se vor număra coloniile dezvoltate, luîndu-se în considerare plăcile în care s-au dezvoltat 30—300 de colonii. Se raportează numărul de colonii determinat la 1 ml sau 1 g de produs.

— Determinarea numărului probabil al bacteriilor coliforme.

Materiale necesare: eprubete conţinînd 5 ml mediu Kessler—Swenarton, cu tuburi de fermentaţie. Se fac diluţii 1/10—1/100 000. Din

Scanned with OKEN Scanner

fiecare diluţie se însămînţează cîte 1 ml în cîte 3 eprubete cu medii de cultură şi se incubează timp de 24 de ore la termostat. Se determină apoi numărul probabil de bacili coli prin calcul sau conform tabelului de mai jos :

Numărul eprubetelor din ultimele 3 diluţii în care s-au dezvoltat germenii	Numărul probabil de bacili coli	Numărul eprubetelor din ultimele 3 diluţii în care s-au dezvoltat germenii	Numărul probabil de bacili coli
000	0	221	3,0
001	0,3	222	3,5
010	0,3	223	4,0
011	0,6	230	3,0
020	0,6	231	3,5
100	0,4	232	4,0
101	0,7	300	2,5
102	1,1	301	4,0
110	0,7	302	6,5
111	1,1	310	4,5
120	1,1	311	7,5
121	1,5	312	11,5
130	1,6	313	16,5
200	0,9	320	9,5
201	1,4	321	15
210	1,5	323	30
220	2,0	332	110
		333	140

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 13 752	*Peptonum purum*	100 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	100 g
Cod 19 714	*Gentiana violet*	0,40 g
	Geloză simplă 2%	15 000 g
	Mediu Kessler	10 000 ml

Compoziţia mediului Kessler—Swenarton. Bilă de bou proaspătă 50 ml, peptonă 10 g, lactoză 10 g, violet de genţiana 1% 4 ml şi apă de robinet 1 000 ml. pH = 7,4—7,6. Se sterilizează la autoclavă, la 110°, timp de 30 de minute, după ce în prealabil a fost repartizat în tuburi cu tubuşor de fermentaţie.

c) *Probe biochimice de prospeţime*

Proba reductazei : Într-o eprubetă spălată cu apă fierbinte se toarnă soluţie de albastru de metilen şi 20 ml lapte de cercetat încălzit la 40°. Se ţine apoi în baie la 38° şi se urmăreşte decolorarea după 20 de minute, după 2 ore şi după 5 ore şi jumătate. Dacă decolorarea se efectuează peste 5 ore şi jumătate, calitatea laptelui este bună, numărul de germeni/ml fiind sub 500 000.

Dacă decolorarea apare de la 5 la 2 ore, calitatea laptelui este satisfăcătoare, conţinînd de la 500 000 pînă la 4 milioane de germeni/ml.

Scanned with OKEN Scanner

Dacă decolorarea apare de la 2 ore la 20 de minute, calitatea laptelui este proastă, conținînd între 4 și 20 de milioane de germeni/ml.

Decolorarea sub 20 de minute : calitatea laptelui este foarte proastă, avînd peste 20 de milioane germeni/ml.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 20 120	*Methilen blau*	1 g

Prospețimea untului se determină cu reacția Kreis. Într-o eprubetă se introduce 1 g grăsime de unt și se adaugă 10 ml soluție 1% fluoroglucină în acetonă, preparată proaspăt. Se agită pînă la completa dizolvare a untului, apoi se adaugă 10—15 picături de acid sulfuric și se agită puternic timp de 2 minute. Se răcește la curent de apă timp de 20 de minute, apoi se notează coloratia apărută.

Coloratia galbenă corespunde untului proaspăt.

Coloratia slab roz corespunde untului cu început de rîncezeală.

Coloratia roșie corespunde untului rînced.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 38	*Acetonum* pt. a.	100 ml
Cod 1 518	*Acidum sulfuricum* D=1,83 (—N) p. a.	200 ml
Cod 13 991	*Phloroglucinum* p. a.	1 g

d) *Controlul pasteurizării* se efectuează cu proba fosfatazei.

Prepararea soluțiilor

— Soluție tampon : 8 g carbonat de sodiu și 14 g bicorbonat de sodiu se dizolvă în apă, în balon cotat de 1 litru. Se prepară săptămînal.

— Soluție fenilfosfat disodic : 0,110 g fenilfosfat disodic se dizolvă în 50 ml soluție tampon ; se prepară zilnic.

— Soluție 2,6-dibromchinonclorimidă : 40 mg dibromchinolclorimidă se dizolvă în 10 ml alcool etilic. Se păstrează 3 zile.

— Soluție etalon fenol : 100 mg fenol se dizolvă în apă și se aduce la 1 000 ml. 10 ml din această soluție se diluează la 500 ml ; 1 ml din soluția diluată corespunde la 2 g fenol.

Tehnică. În 2 eprubete se ia cîte 1 ml lapte. Una din eprubete (martor) se încălzește 5 minute la 85°. În fiecare eprubetă se adaugă cîte 2 picături cloroform. În eprubeta martor se adaugă 5 ml soluție etalon de fenol și 5 ml soluție fenilfosfat disodic. În celelalte 2 eprubete se adaugă cîte 5 ml apă și 5 ml soluție fenilfosfat disodic. Tuburile se țin 30 de minute la 38°. Se răcește și se adaugă cîte 4 picături soluție 2-6-dibromchinonclorimidă. Se compară cu proba martor. Dacă culoarea probelor este egală cu a martorului, laptele este bine pasteurizat.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 580	*Acidum carbolicum cryst. pur*	1 g
Cod 5 563 a	*Chloroformium* p. a.	200 ml
Cod 6 533	*2-6-Dibrom chinonum clorimid* p. a. . .	0,4 g
Cod 11 741	*Natrium bicarbonicum* p. a.	140 g
Cod 11 847 +)	*Natrium carbonicum sicc.* pt. a. . . .	80 g
	Phenyl phosphat disodic	22 g

e) *Controlul laptelui praf* se efectuează conform STAS 5 559/57 astfel :

Se examinează aspectul pentru a se vedea dacă prezintă aglomerări, corpi străini sau particule arse.

Reconstituirea laptelui din lapte praf : se cîntăresc 12,5 g lapte praf, apoi se amestecă prin frecare cu o cantitate mică de apă încălzită la 40°, pînă la obținerea unei mase vîscoase și omogene. Se adaugă treptat apă caldă de 80°, pînă la 100 ml. Laptele trebuie să aibă un aspect omogen, culoare naturală, miros și gust specific.

În cazul în care acest examen de control nu este normal, se vor face analize conform STAS 5 559/57.

6. CONTROLUL CONSERVELOR DE LEGUME ȘI FRUCTE

Conservele de legume și fructe se examinează conform STAS 1 754/58.

Pentru controlul curent sînt suficiente proba de ermeticitate și cea de termostatare.

a) *Proba de ermeticitate.* Cutiile de conserve se spală și se introduc într-un vas cu apă încălzită aproape de fierbere și se țin în apă 5—7 minute. Degajarea unor bule de aer de pe suprafața cutiilor dovedește lipsa de ermeticitate.

b) *Proba de termostatare.* Cutiile care au corespuns încercării de ermeticitate se țin 10 zile într-un termostat la 37°, după care se răcesc. Cutiile nu trebuie să prezinte capacele bombate.

7. ANALIZA GRĂSIMILOR ȘI ULEIURILOR COMESTIBILE

Controlul grăsimilor și uleiurilor alimentare urmărește determinarea calităților fizico-chimice prevăzute în STAS 145/57.

Pentru controlul curent determinările se referă la condițiile de prospețime, puritate și eventual falsificarea acestor produse.

a) *Examenul organoleptic.* Uleiurile lichide se privesc printr-un strat de 100 mm înălțime, observîndu-se dacă uleiul este tulbure sau emulsionat sau dacă conține impurități.

Mirosul se examinează prin încălzirea probei la 50° pe baia de apă și mirosirea produsului.

Gustul se apreciază prin degustare. Gustul nu trebuie să fie înțepător, amar sau rînced.

b) *Identificarea apei.* Apa, în cantități mai mari decît cele prevăzute, se pune în evidență prin aspectul tulbure sau emulsionat al uleiului.

c) *Identificarea săpunului.* Săpunul conținut în produsul de analizat provine din rafinarea uleiurilor.

Reactivi. Albastru de bromfenol 0,5% ; acid clorhidric concentrat ; fenolftaleină 1% în alcool.

Tehnică. Într-o eprubetă se amestecă produsul cu apă. Dacă săpunul este prezent, se formează o emulsie, iar la adăugarea de albastru de bromfenol se produce culoarea albastră-violetă. Prin adăugare de acid emulsia se sparge, lichidele se stratifică și coloratia trece în galben. Într-un vas Erlenmeyer de 250 ml se fierb 50 ml apă distilată cu cîteva

Scanned with OKEN Scanner

picături de fenolftaleină. Apa trebuie să rămînă incoloră. Se adaugă 5—10 ml ulei vegetal și se fierbe încă 5 minute. După fierbere se adaugă din nou cîteva picături de soluție fenolftaleină. Culoarea roz a stratului apos indică prezența săpunului.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	200 ml
Cod	2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	200 ml
Cod	19 011	*Brom phenol blau*	0,50 g
Cod	20 482	*Phenolphtaleinum*	1 g

d) *Determinarea indicelui de peroxid.* Această reacție se execută pentru determinarea gradului de rîncezire a uleiului sau grăsimii.

Reactivi : soluție saturată de iodură de potasiu ; acid acetic glacial ; cloroform ; sulfat de sodiu 0,01 N ; amidon soluție 1%.

Tehnică. Se cîntărește 1 g produs și se introduce într-un vas Erlenmeyer cu dop rodat de 100 ml. Se adaugă 20 ml amestec acid acetic glacial și cloroform 2 : 1 și 1 ml soluție saturată iodură de potasiu. Se agită puternic și se ține 3 minute la întuneric. Se adaugă 20 ml apă și se titrează cu tiosulfat de sodiu 0,01 N în prezența amidonului. Se prepară și probă martor cu reactivi fără produs.

$$\text{Calcul : Indicele de peroxid} = \frac{V - V_1}{M} \times 5$$

în care : V = mililitri de tiosulfat folosit la titrare
V_1 = mililitri de tiosulfat folosit la titrarea martorului
M = masa probei în grame.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	400 ml
Cod	3 210 A	*Amylum solubile* p. a.	100 g
Cod	5 563 a	*Chloroformium* pt. a.	200 ml
Cod	9 695 b	*Kalium iodatum* p. a.	200 g
Cod	12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	10 g

8. ANALIZA FĂINII, PÎINII ȘI PASTELOR FĂINOASE

Analiza completă se efectuează conform STAS 90/56. La controlul curent interesează caracterele organoleptice, controlul infestării, controlul alterării și modificările consecutive proastei depozitări.

a) *Cercetarea infestării.* Se examinează cu lupa resturile rămase pe sita nr. 4, după cernerea unui kilogram de făină. Se pot decela acarieni. Infestarea cu acarieni se mai poate constata prin mirosul de miere al făinii și prin turtirea unui con făcut din 100 g făină după 1 oră.

b) *Cercetarea paraziților vegetali.* Se cercetează, la microscop, straturi de făină întinsă pe lame de sticlă pentru decelarea acestor paraziți.

Scanned with OKEN Scanner

c) *Determinarea acidității.* Se cîntăresc, în fiolă de sticlă cu capac, 5 g făină, la balanța de precizie. Se pipetează apoi 50 ml alcool etilic, se agită timp de 5 minute și se filtrează. Se iau 25 ml din filtrat și se introduc într-un vas conic. Se adaugă 3 picături fenolftaleină și se titrează cu hidroxid de sodiu 0,1 N pînă la apariția culorii roz, care persistă 1 minut. Aciditatea se exprimă în grade ; 1 grad este egal cu aciditatea din 100 g făină care se neutralizează cu 1 ml hidroxid de sodiu normal.

Calcul :

$$\text{Aciditatea} = \frac{20\ V}{G} \text{ grade}$$

în care : V = volumul hidroxid de sodiu 0,1 normal, utilizat la titrare, în ml ;

G = greutatea făinii determinate.

Reactivi necesari (pentru 100 de examene)

Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	5 000 ml
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	100 g
Cod 20 482	*Phenolphtaleinum*	1 g

d) *Determinarea umidității.* Se cîntăresc, la balanța analitică, 5 g făină. Fiola cu făină se introduce cu capacul deschis în etuvă la 140—145°, apoi etuva se aduce la 120° și se menține 45 de minute. Se scoate și se introduce în exsicator pentru răcire, iar după 30 de minute se cîntărește din nou.

$$\text{Umiditatea} = 20 \times (G_1 - G_2)$$

în care : G_1 = greutatea fiolei cu făină înainte de uscare

G_2 = greutatea fiolei cu făină după uscare.

e) *Determinarea glutenului umed.* Se cîntăresc 25 g făină, se trec în mojar, se adaugă 12,5 ml apă și se frămîntă cu pistilul, timp de 5 minute. Aluatul obținut se acoperă cu o sticlă de ceas și se lasă în repaus 25 de minute. Se spală apoi sub curent slab de apă timp de 25—30 de minute, temperatura apei de spălare trebuind să fie de 18—20°. Bucățelele de aluat căzute în timpul spălării se prind pe o sită și se reiau. Spălarea se consideră terminată cînd apa se scurge limpede și nu mai dă o coloratie albastră cu soluția Lugol. Se stoarce apoi bine glutenul cu mîinile uscate. Se usucă și se cîntărește.

$$\% \text{ Gluten} = 4 \cdot G$$

G = greutatea glutenului umed, stors și uscat.

Gluten categoria I : dacă este tare, elastic și nelipicios. Caracterizează făina bună.

Gluten de categoria a II-a : dacă este moale, lipicios, filant. Caracterizează făina slabă.

Scanned with OKEN Scanner

9. CONTROLUL BĂUTURILOR ALCOOLICE

Controlul băuturilor alcoolice se face conform STAS 184/54. La controlul curent se aplică indicatori pentru depistarea falsificărilor și pentru decelarea compușilor toxici.

a) *Determinarea concentrației alcoolice.* Se efectuează cu ajutorul alcoolmetrului gradat, în procente de volum. Valorile indicate corespund temperaturii de 15°. Dacă temperatura laboratorului este mai mare sau mai mică decît 15°, proba trebuie adusă la această temperatură sau se utilizează tabele de corecție.

b) *Determinarea alcoolilor superiori*

Prepararea soluțiilor

— alcool etilic de 50° ;
— soluție etalon pentru alcool izoamilic : 0,1 g alcool izoamilic, la 1 000 ml alcool de 50° ; 1 ml soluție conține 0,1 mg alcool izoamilic ;
— soluție etalon de aldehidă acetică cu un conținut de 0,05 mg/ml ;
— soluție de aldehidă salicilică : 1 g aldehidă salicilică se dizolvă în 100 ml alcool ;
— acid sulfuric p. a.

Tehnică. În balonașe identice de 100 ml se face o scară colorimetrică din 0,5 în 0,5 ml, pînă la 6 ml, cu ajutorul soluției etalon pentru alcool izoamilic. În fiecare balonaș se adaugă 1 volum de soluție etalon aldehidă acetică, egal cu volumul de soluție conținut în tubul colorimetrului pentru aldehide. Se aduce volumul la 10 ml în toate balonașele cu alcool 50%. Într-un balonaș identic se introduc 10 ml alcool etilic, diluat la concentrația de 50% în volume. În toate balonașele se adaugă cîte 0,5 ml aldehidă salicilică și cîte 20 ml acid sulfuric. Se agită balonașele și se lasă să se răcească. Se compară intensitatea colorației probei cu fiecare din balonașele scării colorimetrice.

Calcul

$$\text{Alcooli superiori la 100 ml alcool anhidru} = \frac{V}{500}$$

în care V = volumul soluției etalon pentru alcool izoamilic.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	13	*Acetaldehydum* p. a.	10 g
Cod	2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	500 ml
Cod	2 348	*Alcohol amylicus* p. a.	10 ml
Cod	2 531	*Aldehydum salicylicum* p. a.	10 g

c) *Determinarea alcoolului metilic*

Reactivi :

— acid fosforic 4/N
— permanganat de potasiu 3%
— acid sulfuric p. a.
— acid oxalic 10%
— fucsină acidă sulfuroasă.

Scanned with OKEN Scanner

Tehnică. 1 ml alcool de cercetat, adus la 50%, se introduce într-un tub şi se adaugă 4 ml apă distilată, 2 ml acid fosforic şi 2 ml permanganat de potasiu. Se agită, se lasă 15 minute şi se adaugă 1 ml acid oxalic. Se agită, se lasă să stea 2 minute şi se adaugă 1 ml acid sulfuric. Se agită, se adaugă 3 ml soluţie fucsină acidsulfuroasă. Se lasă 20 de minute. Coloraţia violacee indică prezenţa alcoolului metilic.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	1 249	*Acidum oxalicum* p. a.	20 g
Cod	1 360	*Acidum orto phosphoricum* D=1,17 p. a.	100 g
Cod	1 518	*Acidum sulfuricum* D=1,83 (=N) p. a.	300 ml
Cod	9 767	*Kalium permanganicum* p. a.	6 g
Cod	18 632	*Acidum rubin*	1 g

d) *Determinarea substanţelor colorante artificiale*

Reactivi : alcool amilic p. a. ; alaun de potasiu ; amoniac 10 ml + 20 ml apă.

Tehnică. Se pune băutura alcoolică industrială la evaporare. Reziduul se alcalinizează cu amoniac şi se extrage cu alcool amilic prin pîlnia de separare. Se trece extractul în capsulă de porţelan, se evaporă alcoolul amilic şi reziduul se diluează cu apă distilată. Se adaugă puţin alaun şi se fierbe timp de 10 minute cu cîteva fire de lînă albă. Coloranţii sintetici se fixează pe lînă.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	2 348	*Alcohol amylicus* p. a.	2 000 ml
Cod	2 883	*Ammonia liquida* p. a.	1 000 ml
Cod	9 510 +)	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. .	200 g

II. CONTROLUL SANITAR AL AERULUI

A. RECOLTAREA ŞI ANALIZA PRAFULUI DIN MEDIUL AERIAN

Prin praf se înţelege dispersia de particule solide din aer. Aceste particule sînt constituite în cea mai mare parte din produse de fărîmiţare a solului, apoi din fum, praf industrial, particule organice, praf vulcanic şi praf cosmic.

1. RECOLTAREA PULBERILOR

Recoltarea pulberilor se face în 2 moduri.

a) *Prin sedimentare* în borcane cu diametrul de 25 cm, care au o suprafaţă de aproximativ 500 cm². Aceste borcane se vor aşeza în locurile de cercetare. În vase se introduce o cantitate de 50—100 ml apă

distilată, pentru a reține mai ușor praful. Expunerea borcanelor se face timp de 1—10 zile, după gradul de impurificare a aerului. Se golește apoi conținutul borcanului și se spală cu apă distilată. Conținutul și apa de spălare se filtrează pe filtru cantitativ și după uscare se cîntărește.

b) *Determinarea prafului atmosferic prin aspirație.*

— Cu ajutorul *conimetrului Zeiss.* Conimetrul Zeiss este compus dintr-o pompă aspiratoare, 1 disc pentru reținerea prafului și un dispozitiv optic de citire. Citirea numărului de particule se face direct pe discul aparatului, cu ajutorul dispozitivului optic.

— Recoltarea cu ajutorul *barbotoarelor cu izbire* (împingere). Se construiesc barbotoare cu o capacitate de 350 ml și barbotoare mai mici, cu o capacitate de 80—100 ml. În barbotoarele mari se introduc 100 ml lichid pentru reținerea prafului aspirat. Pentru bioxidul de siliciu se introduce alcool metilic, pentru praful de ciment se introduce acetonă, iar pentru praful atmosferic comun se introduce apă. Se aspiră apoi prin barbotor un curent de aer cu o viteză de 3—30 litri/minut. După recoltarea probei de aer (cantitatea de aer se determină cu ajutorul unui gazometru) se efectuează numărătoarea particulelor, în camerele pentru numărătoarea elementelor sanguine. Cifra obținută se raportează la cantitatea de lichid din barbotor și apoi la volumul aerului aspirat. Cu ajutorul micrometrului ocular se determină apoi dimensiunile acestor particule.

Se efectuează apoi analiza chimică a prafului recoltat. Produsul uscat și cîntărit se calcinează, obținîndu-se astfel cantitatea de praf anorganic și organic.

2. CERCETAREA BIOXIDULUI DE SILICIU

Se depune pe o lamă de sticlă o picătură din lichidul din barbotor. Se determină, cu ajutorul micrometrului ocular, numărul de particule de pe o suprafață anumită. Se depune apoi, fără a se schimba poziția lamei, o picătură de tetralină. Particulele de bioxid de siliciu avînd un indice de refracție apropiat de cel al tetralinei, nu se vor mai observa. Numărînd apoi pe aceeași suprafață particulele de praf, vom obține o cifră mai mică. Diferența reprezintă numărul de particule de bioxid de siliciu. Se face apoi valoarea procentuală a numărului de particule de bioxid de siliciu față de numărul total de particule de la prima citire.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 15 822 *1-2-3-4-Tetrahydro naphtalenum purum* 50 ml

B. ANALIZA CHIMICĂ A AERULUI ATMOSFERIC

1. RECOLTAREA PROBELOR

Recoltarea probelor se face prin aspirarea unui volum de aer cunoscut, într-un barbotor care conține o substanță capabilă să rețină substanța pe care dorim să o determinăm.

2. DETERMINAREA BIOXIDULUI DE SULF

Metoda Poleajev. Recoltarea probelor de aer se face în două barbotoare de format mic, legate în serie, conţinînd fiecare cîte 2 ml soluţie absorbantă de clorat de potasiu 4%.

Tehnică. Barbotoarele prin care s-a trecut aerul se aduc la semn. Apoi, în 2 eprubete colorimetrice se ia cîte 1 ml soluţie din fiecare barbotor. Se pregăteşte o scară standard în 6 eprubete identice, în care se introduc cîte 0,1—0,2—0,3—0,4—0,5 şi 0,6 ml soluţie standard de lucru, apoi volumul fiecărei eprubete se aduce la 1 ml cu soluţia absorbantă. Deci scara concentraţiei standard de bioxid de sulf este de 0, 2, 4, 6, 8 şi 10 γ/ml. În toate eprubetele scării precum şi în eprubetele care conţin proba de analizat se adaugă o picătură de acid clorhidric 3%, se agită, apoi se adaugă 5 picături de clorură de bariu 10% şi se agită din nou. După 20 de minute se compară cele 2 probe cu scara etalon.

Calculul rezultatelor :

$$SO_2 \text{ mg/litru aer} = \frac{2\,(a+b)}{L}$$

în care : a = mg SO_2 în proba din primul barbotor ;
b = mg SO_2 în proba din al doilea barbotor ;
L = volumul de aer aspirat.

Prepararea soluţiei standard de bază : sulfit de potasiu 0,054 4 g%. Standardul de lucru se obţine diluînd standardul de bază de 10 ori.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	931	*Acidum hidrochloricum* D=1,19 p. a. .	10 ml
Cod	9 600 +)	*Kalium chloratum cryst.* p. a.	1 gr
Cod	9 863	*Kalium sulfurosum* p. a.	10 g

3. DETERMINAREA CLORULUI LIBER

Metoda nefelometrică Kolîcev. Reactivi. Soluţie absorbantă : trioxid de arsen 0,002 N, soluţie de nitrat de argint 0,005 N, soluţie de acid azotic 0,1/N ; soluţie standard : 0,21 g clorură de potasiu *sicc.* ‰.

Recoltarea se face cu un debit de 0,25—0,5 litri/minut într-un singur barbotor.

Tehnică.

Eprubetele	1	2	3	4	5	6	7
— soluţie standard în ml	0	0,03	0.05	0,1	0,2	0,4	0,6
— corespondenţa în mg clor	0	0,003	0,005	0,01	0,02	0,04	0.06
— soluţie absorbantă în ml	5	4,97	4,95	4,9	4,8	4,6	4,4

În toate eprubetele scării şi în probă se adaugă cîte 1 ml acid azotic 0,1 N şi 1 ml nitrat de argint 0,005 N. După 5—10 minute se nefelometrează.

Scanned with OKEN Scanner

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	1 193	*Acidum nitricum fumans* D=1,52 p. a.	100 ml
Cod	3 431	*Argentum nitricum* p. a.	10 g
Cod	9 600 +)	*Kalium chloratum cryst.* p. a.	2 g

4. DETERMINAREA HIDROGENULUI SULFURAT

Metoda Poleajev—Ghirina—Lactionova. Soluţie absorbantă : trioxid de arsen 0,2% în carbonat de amoniu 0,5%.

Soluţie de nitrat de argint 1% în acid sulfuric 10%.

Soluţie de carbonat de amoniu 0,5%.

Soluţie standard : 3 ml soluţie sulfit de sodiu 0,1/N se diluează la 100 ml cu soluţie carbonat de amoniu 0,5%. Soluţia obţinută se diluează cu o soluţie de carbonat de amoniu 0,5% de 50 de ori ; 1 ml din aceasta corespunde la 0,002 mg hidrogen sulfurat. Se recoltează cu un debit de 15 litri/oră, prin 2 barbotoare.

Tehnică.

Eprubetele	1	2	3	4	5	6	P_1 7	P_2 8
Soluţie standard	0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5		
mg H_2S	0	0,000 2	0,000 4	0,000 6	0,000 8	0,001	a	b
Soluţie absorbantă	1	0,9	1,8	0,7	0,6	0,5	1	1

În toate eprubetele şi în probe se adaugă o picătură de soluţie nitrat de argint 1% în acid sulfuric 10%.

După 10 minute se nefelometrează comparativ cu scara.

Calcul :

$$H_2S \text{ mg/litru aer} = \frac{2\,(a+b)}{L}$$

în care : a = primul barbotor,
b = al doilea barbotor,
L = volumul de aer aspirat.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod	447	*Acidum arsenicosum anhydricum* p. a.	0,20 g
Cod	1 518	*Acidum sulfuricum* D=1,83 (—N) p. a.	10 g
Cod	2 938	*Ammonium carbonicum siccum* p. a. .	5 g
Cod	3 431	*Argentum nitricum* p. a.	10 g
Cod	12 369	*Natrium sulfurosum siccum* p. a. . . .	10 g

5. DETERMINAREA OXIZILOR DE AZOT

Metoda Poleajev

Reactivi : soluţie absorbantă : soluţie kaliu iodat 8% ; soluţie sulfit de sodiu 0,01 N ;

— reactivul Griess: 0,2 g α-naftilamină se fierbe 2—3 minute cu 20 ml apă bidistilată. Apoi se toarnă această soluție în 150 ml acid acetic 12%. O parte din această soluție se amestecă cu o parte egală din soluția de 0,5% acid sulfanilic în 150 ml acid acetic 12%.

Soluția standard de nitrit de sodiu 0,049 3 g%. Această soluție se diluează de 100 de ori cu soluție de kaliu iodat 0,5/N, iar 1 ml din această soluție se diluează de 10 ori cu kaliu iodat 0,5 N.

Recoltarea se execută cu un debit de 15 litri/oră, prin două barbotoare.

Tehnică.

Eprubetele	1	2	3	4	5	6	P_1	P_2
Soluție standard finală	0	0,1	0,3	0,5	0,75	1	—	—
mg azot	0	0,000 0	0,000 03	0,000 05	0,000 07	0,000 1	a	b
Soluție absorbantă	1	0,9	0,7	0,5	0,25	0	1	1

În toate eprubetele scării și în martor se introduc 0,5 ml reactiv Griess, se agită și după 10 minute se compară.

Calcul :

$$\text{N mg/litru aer} = \frac{2\,(a+b)}{L}\,; \quad \text{NO}_2 \text{ mg/litru aer} = \frac{6{,}56\cdot(a+b)}{L}$$

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 242 a *Acidum amino-benzol-sulfonicum para* pt. a . . . . . 10 g
Cod 9 695 b *Kalium iodatum* p. a. . . . . 20 g
Cod 11 588 *α-naphthylaminum* p. a. . . . . 10 g
Cod 12 369 *Natrium sulfurosum siccum* p. a. . . . 100 g

6. DETERMINAREA SULFURII DE CARBON

Metoda Hritinina

Reactivi : alcool etilic ; soluție absorbantă : soluție alcoolică de dietilamină 1,5% ; soluție alcoolică de acetat de cupru 0,05% ; soluție de roșu metil : 0,05 g roșu metil se dizolvă în 100 ml soluție natriu hidroxid 0,1 N (soluția I).

Aspirarea se face timp de 10 minute, cu un debit de 0,5 litri/minut, printr-un singur barbotor. Se prepară o scară standard artificială.

Tehnică.

Eprubetele	1	2	3	4	5	6
Soluție standard	0	0,05	0,1	0,2	0,5	1
Miligrame de sulfură de carbon	0	0,000 5	0,001	0,002	0,003	0,010
Apă distilată	2	1,95	1,9	1,8	1,7	1

Scanned with OKEN Scanner

Într-o eprubetă identică cu a scării artificiale se introduc 2 ml soluție din barbotor, se tratează cu 0,1 ml soluție acetat de cupru 0,05%, iar după 5—10 minute se compară cu scara artificială.

Calcul :

$$CS_2 \text{ mg/litru} = \frac{a}{L}$$

Soluția standard pentru scara artificială se prepară diluînd soluție de roșu metil astfel : 1,8 ml soluția I se introduce în balonul cotat de 100 ml și se completează la semn cu natriu hidroxid 0,1 N.

Reactivi necesari (pentru 100 de determinări)

Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	1 000 ml
Cod 5 241 +)	*Carboneum sulfuratum* pt. a.	100 ml
Cod 5 925 +)	*Cuprum aceticum basicum* pt. a. . . .	100 g
Cod 6 383	*Diaethyl. aminum* p. a.	3 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	100 g
Cod 20 092	*Methyl rot cryst.*	1 g

7. DETERMINAREA BIOXIDULUI DE CARBON

Metoda Pettenkoffer

Prepararea soluțiilor

— soluție de hidroxid de bariu : 6—7 g hidroxid de bariu se dizolvă într-un litru de apă fiartă și răcită ; se adaugă 0,2 g clorură de bariu. Se păstrează în flacoane ermetic închise ;

— soluție acid oxalic : se iau 2,864 4 g acid oxalic pt. a. și se dizolvă într-un litru de apă distilată ;

— soluție alcoolică fenolftaleină 1%.

Recoltarea probei se face într-o sticlă de 5 litri, cu volum bine determinat și care se poate închide perfect cu ajutorul unui dop de cauciuc. Se umple sticla cu apă distilată. Se aduce la locul de cercetat și se golește apa. Se astupă sticla în care a intrat aerul din locul de cercetare.

Tehnică. Se destupă flaconul cu grijă și se introduc în flacon 100 ml hidroxid de bariu, se astupă din nou și se agită 12—15 minute. În urma absorbției de bioxid de carbon din sticlă, hidroxidul de bariu se va tulbura. Se lasă să se sedimenteze precipitatul format, apoi se pipetează 25 ml din soluția clară. Se introduce într-un flacon de 100 ml, se adaugă 2 picături de fenolftaleină și se titrează cu acid oxalic pînă la dispariția culorii roșii.

Proba martor. Se iau 25 ml hidroxid de bariu și se introduc într-un flacon Erlenmeyer ; se adaugă 2 picături soluție fenolftaleină și se titrează rapid cu acid oxalic pînă la dispariția culorii roșii.

Rezultate. Dacă A=numărul de mililitri de acid oxalic cu care s-a titrat proba martor şi B = numărul de mililitri de acid oxalic cu care s-a titrat proba, atunci : 4 A — 4 B = 4 (A-B) indică scăderea alcalinităţii soluţiei de hidroxid de bariu utilizată în determinare.

Calcul :

$$X = \text{mg } CO_2/\text{litru} = \frac{1\,000 \cdot (A - B) \cdot 4}{V - 100}$$

Reactivi necesari (pentru 100 de probe)

Cod	1 249	*Acidum oxalicum* p. a.	28 g
Cod	3 761 +)	*Barium chloratum* pt. a.	20 g
Cod	3 783	*Barium hydricum* p. a.	100 g
Cod	20 482	*Phenolphtaleinum*	1 g

CAPITOLUL al IX-lea

INDICATORUL UNOR FORMULE ŞI INDEXUL ALFABETIC DE REACTIVI

INDICATORUL UNOR FORMULE ŞI INDEXUL ALFABETIC DE REACTIVI CARE SE FOLOSESC ÎN ANALIZELE BIOCHIMICE

FORMULE

I. EXAMENE DE URINĂ

1. Reacţii calitative

Cod 21 040	*Papier lackmus neutrale*	50 de benzi
	sau	
Cod 21 190	*Papier universal Indikator* pH 0—12 .	50 de benzi

2. Aciditatea totală

Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	15 ml
Cod 18 504	*Natrium hydricum* N/10	500 ml
Cod 20 482	*Phenolphtaleinum*	0,15 g

3. Alcalinitatea totală

Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	15 ml
Cod 18 034	*Acidum hydrochloricum* N/10	500 ml
Cod 20 482	*Phenolphtaleinum*	0,15 g

4. Cercetarea proteinuriei

a. *Reacţii calitative*

Reacţia cu acid acetic la cald

Cod 139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	50 ml
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	10 g
Cod 21 040	*Papier lackmus neutrale*	50 de benzi

Reacţia cu acid sulfosalicilic

Cod 1 507	*Acidum sulfosalicylicum* p. a.	8 g

b. *Dozarea proteinelor urinare*

Metoda Esbach

Cod	688	*Acidum citricum* pt. a.	40 g
Cod	1 397	*Acidum picricum* p. a.	20 g

5. Cercetarea glicozuriei

a. *Reacţii calitative*

Reacţia Fehling

Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	1,5 g
Cod	6 030 +)	*Cuprum sulfuricum oxydatum* p. a. . .	8 g
Cod	9 732 +)	*Kalium natrium tartaricum* pt. a. . .	40 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	25 g

Reacţia Benedict

Cod	6 030 +)	*Cuprum sulfuricum oxydatum* pt. a. .	10 g
Cod	11 840 +)	*Natrium carbonicum cryst.* pt. a. . .	60 g
Cod	11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum chimic purum*	100 g

Defecarea urinii cu reactivul Courtonne

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	50 ml
Cod	14 146 +)	*Plumbum aceticum* pt. a.	40 g
Cod	21 040	*Papier lackmus neutrale*	5 benzi

b. *Dozarea glicozuriei*

Metoda Ionescu-Matiu

Cod	1 397	*Acidum picricum* p. a.	1,5 g
Cod	8 094	*Glucosum anhydricum* p. a.	1 g
Cod	9 639	*Kalium ferri cyanatum* p. a.	60 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	60 g

6. Cercetarea altor glucide

Cercetarea lactozei în urină

Reacţia Rubner

Cod	2 884+)	*Ammonia liquida* pt. a.	100 ml
Cod	14 146 +)	*Plumbum aceticum* pt. a.	7 g

Cercetarea levulozei

Reacţia Seliwanoff

Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	500 ml
Cod	14 730	*Resorcinum resublimatum* p. a. . . .	10 g

Scanned with OKEN Scanner

7. Cercetarea corpilor cetonici (calitativă)

Reacţia Legal

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a.	80 ml
Cod	2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	300 ml
Cod	12 122	*Natrium nitroprusicum* p. a.	20 g

8. Cercetarea acidului diacetic

Reacţia Gerhard

Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	10 ml
Cod	7 738	*Ferrum sesquichloratum cryst.* p. a. . .	15 g

9. Dozarea amoniacului total şi aminic

Metoda Sörensen-Ronchèse

Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	100 ml
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	1 500 ml
Cod	18 504	*Natrium hydricum* N/10	2 500 ml
Cod	20 482	*Phenolphtaleinum*	1 g

10. Cercetarea nitriţilor

Reacţia Griess

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	7 ml
Cod	242 +)	*Acidum amino benzolsulfonicum para* pt. a.	3 g
Cod	11 588	*α-naphtylaminum* p. a.	2 g

11. Dozarea ureei urinare

Metoda Kowarski

Cod	9 856 +)	*Kalium sulfuricum* pt. a.	350 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	800 g

Dacă se întrebuinţează aparatul Kowarski (original) cantităţile de mai sus sînt de 2—3 ori mai mari.

Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	60 g
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	200 ml
Cod	4 287	*Bromum* p. a.	15 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	200 g

12. Dozarea acidului uric

Cod	1 366	*Acidum phosphoricum* 85% D=1,71 p.a.	8 ml
Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	80 g
Cod	4 287	*Bromum* p. a.	1 ml
Cod	10 374	*Lithium sulfuricum* p. a.	20 g
Cod	11 847 +)	*Natrium carbonicum siccum* pt. a. . .	100 g
Cod	12 235	*Natrium phosphowolframicum* p. a. . .	10 g

Scanned with OKEN Scanner

Soluție Standard anual

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	5 ml
Cod	1 640	*Acidum uricum* p. a.	1,5 g
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	30 ml
Cod	10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a. . . .	1 g

13. Dozarea creatininei

Cod	1 397	*Acidum picricum* p. a.	55 g
Cod	5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	10 ml
Cod	5 865	*Creatinina* p. a.	0,15 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	40 g
Cod	18 034	*Acidum hydrochloricum* N/10	15 ml

14. Cercetarea pigmenților biliari și a derivaților lor

a. *Determinarea calitativă a pigmenților biliari*

Metoda Gmelin

Cod	1 189 C	*Acidum nitricum* p. a. D=1,40 . . .	250 ml
Cod	1 193	*Acidum nitricum fumans* D=1,52 p. a.	5 ml

Reacția cu tinctură de iod, Gilbert-Marchal-Rosin

Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	160 ml
Cod	9 374	*Jodum metallicum resublimatum pss.* .	8 g
Cod	12 053 +)	*Natrium iodatum* pt. a.	8 g

Metoda Fouchet

Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	5 g
Cod	3 761 +)	*Barium chloratum* pt. a.	100 g
Cod	7 645 +)	*Ferrum chloratum oxydatum anhydricum* p. a.	1 g

b. *Urobilinogenul*

Metoda Ehrlich

Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	80 ml
Cod	5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	300 ml
Cod	6 718	*Dimethylamino benzaldehydum para* p. a.	1,5 g

c. *Urobilina*

Metoda Schlesinger

Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° p. a.	400 ml
Cod	17 253 +)	*Zincum aceticum* pt. a.	40 g

Scanned with OKEN Scanner

d. *Sărurile acizilor biliari*

Reacţia Hay

Cod 15 466 +) *Sulfur sublimatum pulvis purificat* . 30 g

15. Determinarea calitativă a prezenţei sîngelui

Reacţia Adler

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	150 g
Cod	3 895	*Benzidinum* p. a.	30 g
Cod	8 859	*Hydrogenium peroxydatum* 30% p. a.	15 ml

16. Determinarea ionilor şi sărurilor anorganice

Dozarea clorurilor

Metoda Mohr

Cod	3 431	*Argentum nitricum* p. a.	8 g
		sau	
Cod	18 166	*Argentum nitricum* N/1	50 ml
Cod	9 614	*Kalium chromicum* p. a.	4 g

Dozarea fosforului mineral

Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	300 ml
Cod	3 007	*Ammonium molibdaenicum cryst.* p. a.	13 g
Cod	5 229	*Carboanimalis pulvis* p. a.	50 g
Cod	5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	10 ml
Cod	8 853	*Hydrochinonum* p. a.	5 g
Cod	9 787 a	*Kalium phosphoricum monobasicum Sörensen* p. a.	0,3 g
Cod	11 840 +)	*Natrium carbonicum cryst.* pt. a. . .	150 g
Cod	12 367	*Natrium sulfurosum cryst.* p. a. . . .	40 g

Dozarea calciului

Metoda titrimetrică

Cod	1 249	*Acidum oxalicum* p. a.	0,4 g
		sau	
Cod	18 068	*Acidum oxalicum* N/10	50 ml
Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	12 g
Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	60 g
Cod	2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	10 ml
Cod	3 024 +)	*Ammonium oxalicum* pt. a.	6 g
Cod	5 229	*Carboanimalis pulvis* p. a.	15 g
Cod	9 767	*Kalium permanganicum* p. a.	0,3 g
		sau	
Cod	18 406	*Kalium permanganicum* N/10	80 ml
Cod	11 638 +)	*Natrium aceticum cryst.* pt. a. . . .	75 g

Scanned with OKEN Scanner

Metoda la fotometru cu flacără

Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	6 ml
Cod	5 027 A	*Calcium carbonicum siccum* p. a.	0,03 g
Cod	9 600 +)	*Kalium chloratum cryst.* pt. a.	0,05 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	1 g

Dozarea sodiului

Metoda la fotometru cu flacără

Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	1 g

Dozarea potasiului

Metoda la fotometru cu flacără

Cod	5 041 +)	*Calcium chloratum anhydricum* pt. a.	5 g
Cod	9 600 +)	*Kalium chloratum cryst.* pt. a.	0,03 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	150 g

17. Cercetarea hormonilor suprarenali

Dozarea 17-cetosteroizilor

Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	300 ml
Cod	1 770	*Aether aethylicus* pt. a.	6 000 ml
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	10 ml
Cod	2 417 +)	*Alcohol methylicus* p. a.	2 000 ml
Cod	6 823	*Dinitro-benzol meta* p. a.	2,5 g
Cod	9 672	*Kalium hydricum in rotulis* p. a.	60 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	250 g
Cod	18 028	*Acidum hydrochloricum* N/1	50 ml
Cod	20 092	*Methyl rot cryst.*	0,01 g
		Dehydroizoandrosteron	10 mg

18. Cercetarea fermenţilor pancreatici

Determinarea amilazuriei

Cod	3 210	*Amylum solubile* pt. a.	2,5 g
Cod	9 374	*Jodum metallicum resublimatum pss.*	1 g
Cod	9 695 b	*Kalium jodatum* p. a.	2 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	15 g

II. EXAMENE DE SÎNGE

1. Teste de disproteinemie

a. Dozarea proteinelor cu raportul albumine/globuline (metoda gravimetrică)

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* p. a.	50 ml
Cod	1 770	*Aether aethylicus* pt. a.	800 ml

Scanned with OKEN Scanner

Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° p. a.	660 ml
Cod	2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	50 ml
Cod	3 103 +)	*Ammonium sulfuricum* pt. a.	60 g
Cod	3 784 +)	*Barium hydricum* pt. a.	20 g
Cod	11 638 +)	*Natrium aceticum cryst.* pt. a.	100 g
Cod	21 040	*Papier lackmus neutrale*	100 de benzi

b. *Dozarea fotometrică (metoda Weichselbaum)*

Cod	6 032	*Cuprum sulfuricum anhydricum* p. a.	12 g
Cod	9 695 b	*Kalium jodatum* p. a.	4 g
Cod	9 732 +)	*Kalium natrium tartaricum* pt. a. . .	36 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	50 g

c. *Dozarea fibrinogenului (metoda gravimetrică)*

Cod	1 770	*Aether aethylicus* pt. a.	4 000 ml
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	4 000 ml
Cod	5 036 +)	*Calcium chloratum* pt. a.	60 g
Cod	11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	10 g

d. *Metoda electroforetică-proteinograma*

Timpul I — Migrarea și separarea fracțiunilor

Cod	11 641	*Natrium aceticum* p. a.	20 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	10 g
Cod	11 920	*5-5-Natrium diaethylbarbituricum* p. a.	30 g
Cod	18 028	*Acidum hydrochloricum* N/1	20 ml
Cod	21 285	*Papier Indicator* pH 7,2— 9,5	20 de benzi

Timpul al II-lea — Fixarea și colorarea spoturilor

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	325 ml
Cod	2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a. numai ce se evaporă la gîtul flaconului	
Cod	17 398 +)	*Zincum sulfuricum* pt. a.	25 g
Cod	19 011	*Brom phenol blau*	0,05 g

Timpul al III-lea — Evaluarea cantitativă a fracțiunilor

Cod	18 504	*Natrium hydricum* N/10.	250 ml

e. *Testul apei bidistilate*

Tehnica (I. Cosmulescu)

Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	10 ml
Cod	19 023	*Brom thymol blau*	0,004 g

Scanned with OKEN Scanner

f. *Testul cu timol (Mac Lagan)*

Cod 729		*5-5-Acidum diaethylbarbituricum* p. a.	1,38 g
Cod 2 334	+)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	5 ml
Cod 11 920		*5-5-Natrium diaethylbarbituricum* p. a.	1,03 g
Cod 16 052		*Thymol cryst.* p. a.	0,50 g

Pentru scara Kingsbury

Cod 1 517		*Acidum sulfuricum* D=1,84 (—As) p. a.	16 g
		sau	
Cod 18 100		*Acidum sulfuricum* N/5	800 ml
Cod 5 036	+)	*Calcium chloratum* pt. a.	1,50 g

g. *Reacţia Gross*

Cod 8 716 A		*Hydrargyrum bichloratum cryst.* p. a.	0,75 g
Cod 11 862		*Natrium chloratum* pt. a.	3 g
Cod 12 360	+)	*Natrium sulfuricum siccum* pt. a. . .	7,50 g

h. *Reacţia Takata-Ara*

Metoda în 8 eprubete

Cod 8 716 A		*Hydrargyrum bichloratum cryst.* p. a.	0,8 g
Cod 11 843 B		*Natrium carbonicum anhydricum* p. a.	25 g
Cod 11 862		*Natrium chloratum* pt. a.	12 g
Cod 19 626		*Fuchsin basicum*	0,03 g

Metoda fotometrică

Cod 8 716 A		*Hydrargyrum bichloratum cryst.* p. a.	0,20 g
Cod 11 843 B		*Natrium carbonicum anhydricum* p. a.	6 g
Cod 11 862		*Natrium chloratum* pt. a.	6 g

i. *Testul cu sulfat de cadmiu (Wunderly-Wuhrmann)*

Cod 4 683	+)	*Cadmium sulfuricum* pt. a.	0,10 g

j. *Testul cu sulfat de zinc (Kunkel)*

Cod 729		*5-5-Acidum diaethylbarbituricum* p. a.	0,140 g
Cod 11 920		*5-5-Natrium diaethylbarbituricum* p. a.	0,100 g
Cod 17 398	+)	*Zincum sulfuricum* pt. a.	0,015 g
Cod 21 273		*Papier Indikator pH 6,6—8 cum Farbskala*	50 de benzi

k. *Testul cu sulfat de cupru (Kunkel)*

Cod 6 032		*Cuprum sulfuricum anhydricum* p. a. .	0,015 g

l. *Testul cu formol-gelificare Gaté-Papacostas-Kűrten*

Cod 7 809		*Formaldehydum* 40% p. a.	20 ml

Scanned with OKEN Scanner

m. *Testele Kunkel*

Cod	581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	5 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	40 g

n. *Banda de coagulare Weltmann*

Cod	5 037 A	*Calcium chloratum Sörensen cryst* p. a.	40 g

o. *Viteza de sedimentare a eritrocitelor (metoda Westergreen)*

Cod	11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	2 g

2. Dozarea ureei (metoda azotometrică)

Cod	9 856 +)	*Kalium sulfuricum* p. a.	350 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	800 g

Dacă se întrebuinţează aparatul Kowarski (original), cantităţile de mai sus sînt de 2—3 ori mai mari.

Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	60 g
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° p. a.	200 ml
Cod	4 287	*Bromum* p. a.	15 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	200 g

3. Dozarea acidului uric

Metoda Folin-Denis (citirea cu colorimetrul Dubosque)

Cod	1 366	*Acidum phosphoricum* 85% D=1,71 p. a.	8 ml
Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	80 g
Cod	4 287	*Bromum* p. a.	1 ml
Cod	10 374	*Lithium sulfuricum* p. a.	20 g
Cod	11 847 +)	*Natrium carbonicum siccum* pt. a. . .	100 g
Cod	12 235	*Natrium phosphowolframicum* p. a. . .	10 g

Soluţie Standard anual

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	5 ml
Cod	1 640	*Acidum uricum* p. a.	1,5 g
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	30 ml
Cod	10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a. . . .	1 g

4. Dozarea creatininei

Metoda Lieb-Zacherl

Cod	1 397	*Acidum picricum* p. a.	8 g
Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	120 g
		sau	
Cod	18 098	*Acidum sulfuricum* N/10	200 ml
Cod	5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	1 ml

Scanned with OKEN Scanner

Cod 5 865	*Creatininum* p. a.	0,01 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	15 g
Cod 12 429	*Natrium wolframicum* p. a.	25 g
Cod 18 034	*Acidum hydrochloricum* N/10	1 ml

5. Dozarea glicemiei

a. *Metoda Denigès modificată de Alin Popescu*

Cod 139	*Acidum aceticum glaciale* p. a. . . .	130 g
Cod 1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	1 ml
Cod 6 032	*Cuprum sulfuricum anhydricum* p. a.	2 g
Cod 8 094	*Glucosum anhydricum* p. a.	1 g
Cod 9 641 +)	*Kalium ferro cyanatum* p. a.	10 g
Cod 9 732 +)	*Kalium natrium tartaricum* p. a. . . .	10 g
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	350 g
Cod 11 952	*Natrium fluoratum* p. a.	20 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	45 g

b. *Micrometoda Hagedorn-Jensen*

Cod 139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	12 ml
Cod 3 210	*Amylum solubile* p. a.	1 g
Cod 9 639	*Kalium ferri cyanatum* p. a.	1,5 g
Cod 9 695 b	*Kalium jodatum* p. a.	1,2 g
Cod 9 700	*Kalium jodicum* p. a.	0,2 g
Cod 11 843 B	*Natrium carbonicum anhydricum* p. a.	15 g
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	250 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	2 g
	sau	
Cod 18 504	*Natrium hydricum* N/10	400 ml
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	1,5 g
	sau	
Cod 18 556	*Natrium thiosulfuricum* N/10	20 ml
Cod 17 398 +)	*Zincum sulfuricum* pt. a.	50 g

c. *Metoda colorimetrică Folin-Wu*

Cod 495	*Acidum benzoicum* p. a.	0,50 g
Cod 1 094	*Acidum molibdaenicum* p. a.	45 g
Cod 1 366	*Acidum phosphoricum* 85% D=1,71 p. a.	150 ml
Cod 1 546	*Acidum tartaricum cryst.* p. a. . . .	6 g
Cod 6 030 +)	*Cuprum sulfuricum oxydatum* pt. a. .	4 g
Cod 8 094	*Glucosum anhydricum* p. a.	1 g
Cod 11 843 B	*Natrium carbonicum anhydricum* p. a.	30 g
Cod 11 952	*Natrium fluoratum* p. a.	20 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	25 g
Cod 12 429	*Natrium wolframicum* p. a.	45 g
Cod 18 096	*Acidum sulfuricum* N/1	25 ml

Scanned with OKEN Scanner

6. Dozarea colesterolului

Dozarea colesterolului total

Extracţia după metoda Grigaut

Cod	1 774	*Aether aethylicus anhydricus* p. a. . .	4 000 ml
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	900 ml
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	15 g

Colorimetrarea

Cod	136	*Acidum aceticum anhydricum* p. a. . .	450 ml
Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	80 ml
Cod	5 563 +)	*Chloroformium* p. a.	1 800 ml
Cod	5 628	*Cholesterinum* p. a.	0,35 g

Dozarea colesterolului esterificat

Extracţia colesterolului

Cod	1 774	*Aether aethylicus anhydricus* p. a. . .	4 000 ml
Cod	2 334 a	*Alcohol aethylicus* 90° p. a.	900 ml
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	15 g

Precipitarea colesterolului liber

Cod	38	*Acetonum* pt. a.	750 ml
Cod	2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* p. a. . .	100 ml
Cod	6 625	*Digitoninum cryst.* p. a.	2 g

Colorimetrarea

Cod	136	*Acidum aceticum anhydricum* p. a. . .	450 ml
Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	80 ml
Cod	5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	4 000 ml
Cod	5 628	*Cholesterinum* p. a.	0,35 g

7. Dozarea bilirubinemiei

a—b. *Metoda fotometrică Jendrassik-Cleghorn-Grof*

Cod	242 +)	*Acidum amino benzolsulfonicum para* pt. a.	0,6 g
Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a. .	2 ml
Cod	5 817	*Coffeinum* pt. a.	40 g
Cod	11 638 +)	*Natrium aceticum cryst.* pt. a.	50 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	12 g
Cod	11 732	*Natrium benzoicum pulvis* p. a. . . .	30 g
Cod	12 124	*Natrium nitrosum in baccilis* p. a. . .	0,05 g

c. *Metoda colorimetrică Hyjmans van den Berg*

Cod	242 +)	*Acidum amino benzolsulfonicum para* pt. a.	0,30 g

Scanned with OKEN Scanner

Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a. .	1 ml
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	400 ml
Cod	3 103 +)	*Ammonium sulfuricum* pt. a.	20 g
Cod	5 801 +)	*Cobaltum sulfuricum oxydulatum* pt.a.	10 g
Cod	12 124	*Natrium nitrosum in baccilis* p. a. . .	0,025 g

8. Dozarea clorului plasmatic

a. *Metoda Volhardt-Laudat*

Cod	1 189	*Acidum nitricum* (—Cl, Pb) D=1,42 p. a.	175 ml
Cod	1 512 +)	*Acidum sulfuricum* D=1,83	500 g
Cod	3 431	*Argentum nitricum* p. a.	10 g
		sau	
Cod	18 170	*Argentum nitricum* N/10	600 ml
		sau	
Cod	18 174	*Argentum nitricum* N/50	2 500 ml
Cod	9 614	*Kalium chromicum* p. a.	0,50 g
Cod	7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.	300 g
Cod	9 769 +)	*Kalium permanganicum* pt. a.	80 g
Cod	9 823	*Kalium rhodanatum* p. a.	3 g
		sau	
Cod	18 416	*Kalium thyocyanatum* N/10	300 ml
Cod	11 864 A	*Natrium chloratum Sörensen* p. a. . .	7 g
		sau	
Cod	18 486	*Natrium chloratum* N/10	150 ml

b. *Metoda Mohr*

Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° p. a.	2 500 ml
Cod	3 431	*Argentum nitricum* p. a.	2 g
		sau	
Cod	18 170	*Argentum nitricum* N/10	100 ml
		sau	
Cod	18 174	*Argentum nitricum* N/50	500 ml
Cod	9 614	*Kalium chromicum* p. a.	1 g

9. Dozarea clorului globular

Metoda Volhardt-Laudat

Cod	1 189	*Acidum nitricum* (—Cl, Pb) D=1,42 p. a.	175 ml
Cod	1 512 +)	*Acidum sulfuricum* D=1,83	500 g
Cod	3 431	*Argentum nitricum* p. a.	10 g
		sau	
Cod	18 170	*Argentum nitricum* N/10	600 ml
		sau	
Cod	18 174	*Argentum nitricum* N/50	2 500 ml
Cod	7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.	300 g

Scanned with OKEN Scanner

Cod	9 614	*Kalium chromicum* p. a.	0,50 g
Cod	9 769 +)	*Kalium permanganicum* pt. a.	150 g
Cod	9 823	*Kalium rhodanatum* p. a.	3 g
		sau	
Cod	18 416	*Kalium thyocyanatum* N/10	300 ml
Cod	11 864 A	*Natrium chloratum Sörensen* p. a. . .	7 g
		sau	
Cod	18 486	*Natrium chloratum* N/10	150 ml
		Heparină 5 000 u.i.	15 fiole

10. Dozarea fosforului mineral

Metoda Bell-Doisy-Brigys

Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	300 ml
Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	150 g
Cod	3 007	*Ammonium molibdaenicum cryst.* pt. a.	13 g
Cod	5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	1 ml
Cod	8 853	*Hydrochinonum* p. a.	5 g
Cod	9 787 a	*Kalium phosphoricum monobasicum Sörensen* p. a.	1 g
Cod	11 840 +)	*Natrium carbonicum cryst.* pt. a. . .	150 g
Cod	12 367	*Natrium sulfurosum cryst.* p. a. . . .	40 g

11. Dozarea calciului

a. *Metoda titrimetrică Kramer şi Tisdall*

Cod	1 249	*Acidum oxalicum* p. a.	0,4 g
		sau	
Cod	18 068	*Acidum oxalicum* N/10	50 ml
Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	12 g
Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	60 g
Cod	2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	10 ml
Cod	3 024 +)	*Ammonium oxalicum* pt. a.	6 g
Cod	9 767	*Kalium permanganicum* p. a.	0,3 g
		sau	
Cod	18 406	*Kalium permanganicum* N/10	80 ml
Cod	11 638 +)	*Natrium aceticum cryst.* pt. a.	75 g

b. *Dozarea la fotometru cu flacără*

Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	6 ml
Cod	5 027 A	*Calcium carbonicum siccum* p. a. . . .	0,03 g
Cod	9 600 +)	*Kalium chloratum cryst.* pt. a. . . .	0,05 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* p. a.	1 g

12. Dozarea sodiului

Dozarea la fotometru cu flacără

Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	1 g

Scanned with OKEN Scanner

13. Dozarea potasiului

Dozarea la fotometru cu flacără

Cod	5 041 +)	*Calcium chloratum anhydricum* pt. a. .	5 g
Cod	9 600 +)	*Kalium chloratum cryst.* pt. a. . . .	0,03 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	150 g

14. Determinarea rezervei alcaline

Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	10 ml
Cod	2 432	*Alcohol aethylicus normale primar* p. a.	10 g
Cod	2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	100 ml

15. Determinări de activităţi enzimatice în ser

a. *Determinarea activităţii amilazice (Wohlgemuth)*

Cod	3 210	*Amylum solubile* p. a.	2,5 g
Cod	9 374	*Jodum metallicum resublimatum pss.* .	1 g
Cod	9 695 b	*Kalium jodatum* p. a.	2 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	15 g

b. *Fosfataza alcalină*

Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	600 ml
Cod	1 609	*Acidum tricloraceticum* p. a.	220 g
Cod	3 007	*Ammonium molibdaenicum cryst.* p. a.	26 g
Cod	5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	2 ml
Cod	8 853	*Hydrochinonum* p. a.	10 g
Cod	9 787 a	*Kalium phosphoricum monobasicum Sörensen* p. a.	2 g
Cod	11 840 +)	*Natrium carbonicum cryst.* pt. a. . .	300 g
Cod	11 978	*Natrium glicerophosphoricum beta* p. a.	1,25 g
Cod	11 920	*5-5-Natrium diaethylbarbituricum* p. a.	1 g
Cod	12 367	*Natrium sulfurosum cryst.* p. a. . . .	80 g
Cod	16 138	*Toluolum* p. a.	50 ml

c. *Fosfataza acidă*

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	10 ml
Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	600 ml
Cod	1 609	*Acidum tricloraceticum* p. a.	220 g
Cod	3 007	*Ammonium molibdaenicum* p. a. . . .	26 g
Cod	5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	2 ml
Cod	8 853	*Hydrochinonum* p. a.	10 g
Cod	9 787 a	*Kalium phosphoricum monobasicum Sörensen* p. a.	2 g
Cod	11 840 +)	*Natrium carbonicum cryst.* pt. a. . .	300 g
Cod	11 978	*Natrium glicerophosphoricum beta* p. a.	1,25 g
Cod	11 920	*5-5-Natrium diaethylbarbituricum* p. a.	1 g
Cod	12 367	*Natrium sulfurosum cryst.* p. a. . . .	80 g
Cod	16 138	*Toluolum* p. a.	50 ml

Scanned with OKEN Scanner

d. *Transaminazele serice*

Determinarea activității transaminazei oxalacetice G.O.T.

Cod	361	*Acidum aminosuccinicum* D.L. p. a.	1,5 g
Cod	595	*Acidum α-cetoglutaricum* p. a.	0,030 g
Cod	691	*Acidum citricum cryst.* p. a.	100 g
Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	5 g
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	400 ml
Cod	3 277	*Anilinum* p. a.	100 g
Cod	6 863	*2-4-Dinitro phenyl hydrasinum* p. a.	0,015 g
Cod	9 672	*Kalium hydricum in rotulis* p. a.	10 g
Cod	9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	1,5 g
Cod	16 138	*Toluolum* p. a.	500 ml
Cod	18 028	*Acidum hydrochloricum* N/1	75 ml
Cod	18 504	*Natrium hydricum* N/10	5 ml

Determinarea activității transaminazei piruvice G.P.T.

Cod	595	*Acidum α-cetoglutaricum* p. a.	0,030 g
Cod	691	*Acidum citricum cryst.* p. a.	100 g
Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	5 g
Cod	2 303	*Alanin* D.L. p. a.	1,1 g
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	400 ml
Cod	3 277	*Anilinum* p. a.	100 g
Cod	6 863	*2-3-Dinitro phenyl hydrasinum* p. a.	0,015 g
Cod	9 672	*Kalium hydricum in rotulis* p. a.	10 g
Cod	9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	1,5 g
Cod	16 138	*Toluolum* p. a.	500 ml
Cod	18 028	*Acidum hydrochloricum* N/1	75 ml
Cod	18 504	*Natrium hydricum* N/10	5 ml

e. *Aldolaza serică*

Metoda Tovarniţki-Volniskaia

Cod	1 005	*Acidum iodoaceticum mono* p. a.	0,015 g
Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	40 g
Cod	5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	10 ml
Cod	6 863	*2-4-Dinitro phenyl hydrasinum* p. a.	0,15 g
Cod	7 839	*Fructose 1-6-diphosphoricum dibarium purum*	0,25 g
Cod	8 840 +)	*Hydrasinum sulfuricum* p. a.	2,5 g
Cod	11 741	*Natrium bicarbonicum* p. a.	2 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	30 g
Cod	12 360 +)	*Natrium sulfuricum siccum* pt. a.	0,2 g
Cod	18 028	*Acidum hydrochloricum* N/1	160 ml
Cod	18 494	*Natrium hydricum* N/1	50 ml
Cod	19 023	*Brom thymol blau*	0,01 g

Scanned with OKEN Scanner

f. *Pseudocolinesteraza serică*

Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	25 g
Cod 18 504	*Natrium hydricum* N/10	50 ml
Cod 19 865	*Kresol rot*	0,01 g
	Acetilcolină 1 ml a 200 mg	30 de fiole

III. PROBE FUNCȚIONALE

1. Proba hiperglicemiei provocate

Proba Duncan

Cod 8 088	*Glucose D. purum*	10,500 g

în plus reactivii necesari, după metoda întrebuințată pentru 400 de dozări de glicemii și 500 de determinări și dozări de glicozurii.

2. Proba cu roșu de Congo pentru decelarea degenerescenței amiloide-Bennhold

Cod 19 162	*Congo rot*	15 g

3. Proba galactozuriei provocate

Cod 8 003	*Galactose D. puriss.*	4 000 g

în plus reactivii necesari pentru 400 de determinări calitative și dozările de glucoză în urină.

4. Proba cu bromsulfonftaleină (B.S.P.)

Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	5 g
	Bromsulfalein 5 ml	110 fiole

5. Proba hiperhipuricuriei provocate Quick

Cod 139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a.	10 ml
Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	25 ml
Cod 3 761 +)	*Barium chloratum* pt. a.	5 g
Cod 11 731	*Natrium benzoicum pulvis puriss.*	
	în proba *per os*	6,50 g
	în proba intravenoasă	250 g
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	10 000 g
Cod 18 102	*Acidum sulfuricum* N/10	300 ml
Cod 18 496	*Natrium hydricum* N/2	5 000 ml
Cod 20 482	*Phenolphtaleinum*	0,25 g

6. Determinarea coeficientului de epurație ureică (van Slyke)

Cod 9 856 +)	*Kalium sulfuricum* pt. a.	350 g
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	800 g

Scanned with OKEN Scanner

Dacă se întrebuinţează aparatul Kowarski (original), cantităţile de mai sus sînt de 2—3 ori mai mari.

Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	60 g
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° p. a.	200 ml
Cod	4 287	*Bromum* p. a.	15 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	200 g

7. Clearance-ul creatininei endogene

Cod	1 397	*Acidum picricum* p. a.	63 g
Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	120 g
		sau	
Cod	18 096	*Acidum sulfuricum* N/1	200 ml
Cod	5 563 +)	*Chloroformium* pt. a.	10 ml
Cod	5 865	*Creatininum* p. a.	0,15 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	55 g
Cod	12 429	*Natrium wolframicum* p. a.	25 g
Cod	18 034	*Acidum hydrochloricum* N/10	15 ml

8. Proba cu fenolsulfonftaleină (P.S.P.)

Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	110 g
Cod	20 490	*Phenol rot*	0,7 g

IV. EXAMENE DE LICHID CEFALORAHIDIAN

A. CERCETAREA PROTEINELOR

1. Reacţii pentru decelarea hiperglobulinorahiilor

a. *Reacţia Pandy*

Cod	581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	7 g

b. *Reacţia Nonne-Appelt*

Cod	2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	25 ml
Cod	3 103 +)	*Ammonium sulfuricum* pt. a.	110 g
Cod	21 040	*Papier lackmus neutrale*	50 de benzi

c. *Reacţia cu benzoe coloidală Guillain-Laroche-Lechelle*

Cod	2 336 a	*Alcohol aethylicus absolutus* p. a. . .	40 g
		Resina benzoe de Sumatra	4 g

2. Dozarea proteinelor

a. *Metoda Heller*

Cod	1 193	*Acidum nitricum fumans* D=1,52 p. a.	500 ml
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	40 g

Scanned with OKEN Scanner

b. *Metoda Sicard și Cantaloube*

Cod 1 609	*Acidum tricloraceticum* p. a.	33 g

B. CERCETAREA ALTOR CONSTANTE BIOCHIMICE

1. Dozarea clorurilor

Metoda Volhardt-Laudat

Cod 1 189	*Acidum nitricum* (—Cl, Pb) D=1,42 p. a.	175 ml
Cod 1 512 +)	*Acidum sulfuricum* D=1,83	500 g
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	10 g
	sau	
Cod 18 170	*Argentum nitricum* N/10	600 ml
	sau	
Cod 18 174	*Argentum nitricum* N/50	2 500 ml
Cod 7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.	300 g
Cod 9 614	*Kalium chromicum* p. a.	0,50 g
Cod 9 769 +)	*Kalium permanganicum* pt. a.	3 g
Cod 9 823	*Kalium rhodanatum* p. a.	3 g
	sau	
Cod 18 416	*Kalium thyocyanatum* N/10	300 ml
Cod 11 864 A	*Natrium chloratum Sörensen* p. a. . .	7 g
	sau	
Cod 18 486	*Natrium chloratum* N/10	150 ml

2. Determinarea glucozei (glicorahia)

a. *Reacția orientatorie Heine*

Cod 6 032	*Cuprum sulfuricum anhydricum* p. a. .	1,5 g
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	12 ml
Cod 9 672	*Kalium hydricum in rotulis*	6 g

b. *Dozarea glicorahiei*

Metoda Denigès modificată de Alin Popescu

Cod 139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	130 g
Cod 1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	1 ml
Cod 6 032	*Cuprum sulfuricum anhydricum* p. a. .	2 g
Cod 8 094	*Glucosum anhydricum* p. a.	1 g
Cod 9 641 +)	*Kalium ferro cyanatum* p. a.	10 g
Cod 9 732 +)	*Kalium natrium tartaricum* pt. a. . . .	10 g
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	350 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	45 g

Scanned with OKEN Scanner

Micrometoda Hagedorn-Jensen

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	12 ml
Cod	3 210	*Amylum solubile* p. a.	1 g
Cod	9 639	*Kalium ferri cyanatum* p. a.	1,5 g
Cod	9 695 b	*Kalium jodatum* p. a.	1,2 g
Cod	9 700	*Kalium jodicum* p. a.	0,2 g
Cod	11 843 B	*Natrium carbonicum* p. a.	15 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	250 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	2 g
		sau	
Cod	18 504	*Natrium hidricum* N/10	400 ml
Cod	12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	1,5 g
		sau	
Cod	18 556	*Natrium thiosulfuricum* N/10	20 ml
Cod	17 398 +)	*Zincum sulfuricum* pt. a.	50 g

Metoda colorimetrică Folin-Wu

Cod	495	*Acidum benzoicum* p. a.	0,50 g
Cod	1 094	*Acidum molibdaenicum* p. a.	45 g
Cod	1 366	*Acidum phosphoricum* 85% D=1,71 p.a.	150 ml
Cod	1 546	*Acidum tartaricum cryst.* p. a.	6 g
Cod	6 030 +)	*Cuprum sulfuricum oxydatum* pt. a. .	4 g
Cod	8 094	*Glucosum anhydricum* p. a.	1 g
Cod	11 843 b	*Natrium carbonicum anhydricum* p. a.	30 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	25 g
Cod	12 429	*Natrium wolframicum* p. a.	45 g
Cod	18 096	*Acidum sulfuricum* N/1	25 ml

3. Dozarea ureei

Cod	9 856 +)	*Kalium sulfuricum* pt. a.	350 g
Cod	11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	800 g

Dacă se întrebuinţează aparatul Kowarski (original), cantităţile de mai sus sînt de 2—3 ori mai mari.

Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	60 g
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	200 ml
Cod	4 287	*Bromum* p. a.	15 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	200 g

4. Reacţia triptofanului Voisinet

Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	1750 ml
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	1 ml
Cod	12 124	*Natrium nitrosum baccilis* p. a. . . .	2 g

C. EXAMENUL SEDIMENTULUI

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	1 ml

Scanned with OKEN Scanner

V. EXAMENE DE SUC GASTRIC

Examen chimic

a. *Examenul acidităţilor*

Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	20 ml
Cod 6 703	*Dimethylamino azo benzol para* p. a. .	0,10 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	25 g
	sau	
Cod 18 504	*Natrium hydricum* N/10	5 000 ml
Cod 20 482	*Phenolphtaleinum*	0,30 g

b. *Determinarea acidului lactic*

Reacţia calitativă Uffelmann

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	20 g
Cod 7 738	*Ferrum sesquichloratum cryst.* p. a. .	0,50 g

c. *Cercetarea sîngelui*

Reacţia Adler

Cod 139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	150 g
Cod 3 895	*Benzidinum* p. a.	30 g
Cod 8 859	*Hydrogenium peroxydatum* 30% p. a.	15 ml

VI. EXAMENUL CONŢINUTULUI DUODENAL

1. Recoltarea conţinutului duodenal

2. Tubaj duodenal

Cod 10 741 +)	*Magnesium sulfuricum* purificat . . .	1 400 g
	Ulei de măsline	700 g

3. Examenul sucului pancreatic (fermenţi)

Cod 1 770	*Aether aethylicus* pt. a.	700 ml

a. *Determinarea activităţii amilazice*

Metoda Wohlgemuth

Cod 3 210	*Amylum solubile* p. a.	2,5 g
Cod 9 374	*Jodum metallicum resublimatum pss.*	1 g
Cod 9 695 b	*Kalium jodatum* p. a.	2 g
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	15 g

b. *Determinarea activităţii lipazelor*

Metoda Bondi, Chiray şi Lebon

Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° p. a.	13 000 ml
Cod 13 334	*Oleum olivarum purum*	2 200 g
Cod 18 504	*Natrium hydricum* N/10	10 000 ml
Cod 20 482	*Phenolphtaleinum*	0,25 g

Scanned with OKEN Scanner

c. *Determinarea activităţii tripsinei*

Metoda cu cazeină Gross-Fuld

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	10 ml
Cod	5 282	*Caseinum purum*	7 g
Cod	11 743 +)	*Natrium bicarbonicum* pt. a.	70 g

VII. EXAMENUL DE MATERII FECALE

Examenul chimic

a. *Determinarea pH-ului*

Cod	21 040	*Papier lackmus neutrale*	60 de benzi

b. *Cercetarea pigmenţilor biliari*

Reacţia cu sublimat-Schmidt

Cod	8 716 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst.* p. a. .	15 g

c. *Cercetarea proteinelor*

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	80 g
Cod	1 366	*Acidum phosphoricum* 85% D=1,71 p.a.	10 ml
Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	100 g
Cod	2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	10 ml
Cod	8 716 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst.* p. a. .	15 g
Cod	10 374	*Lithium sulfuricum* p. a.	12,50 g
Cod	12 235	*Natrium phosphowolframicum* p. a. . .	12,50 g

d. *Cercetarea sîngelui*

Reacţia Adler

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	150 g
Cod	3 895	*Benzidinum* p. a.	30 g
Cod	8 859	*Hydrogenium peroxidatum* 30% p. a. .	15 ml

Examenul microscopic

Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	10 ml
Cod	9 372	*Jodum metallicum* p. a.	0,30 g
Cod	12 053 +)	*Natrium jodatum* pt. a.	0,60 g
Cod	20 756	*Sudan III*	0,10 g

VIII. EXAMENUL CALCULILOR

1. Examenul calculilor urinari

Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	100 ml
Cod	1 189 C	*Acidum nitricum* p. a. D=1,40	100 ml
Cod	2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	500 ml

Scanned with OKEN Scanner

Cod	3 007	*Ammonium molibdaenicum cryst.* p. a.	80 g
Cod	3 016	*Ammonium nitricum* p. a.	8 g
Cod	3 024 +)	*Ammonium oxalicum* pt. a.	6 g
Cod	9 672	*Kalium hydricum in rotulis* p. a. . . .	50 g

2. Examenul calculilor biliari

Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.	2 ml
Cod	1 774	*Aether aethylicus anhydricum* p. a. .	300 ml
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	250 ml
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	40 g
		Tinctura iodi	100 ml

IX. EXAMENUL LAPTELUI MATERN

Identificarea laptelui uman

Reacţia Umikoff

Cod	2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	50 ml

Examene fizice şi biochimice

Reacţia calitativă

Cod	21 040	*Papier lackmus neutrale*	50 de benzi
		sau	
Cod	21 190	*Papier universal Indikator* pH 0-12 .	50 de benzi
		sau	
Cod	21 271	*Papier Indikator* pH 6—8	50 de benzi

Aciditate totală

Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	25 ml
Cod	18 504	*Natrium hydricum* N/10	100 ml
Cod	20 482	*Phenolphtaleinum*	0,25 g

Dozarea grăsimilor

Cod	1 770	*Aether aethylicus* p. a.	2 000 ml
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	1 000 ml
Cod	2 884 +)	*Ammonia liquida* pt. a.	35 g

Dozarea lactozei

Cod	1 186 +)	*Acidum nitricum* D=1,40 67% pt. a. .	80 ml
Cod	1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	3 ml
Cod	6 030 +)	*Cuprum sulfuricum oxydatum* pt. a. .	20 g
Cod	8 779	*Hydrargyrum oxydatum rubrum* p. a.	110 g
Cod	9 641 +)	*Kalium ferro cyanatum* pt. a.	30 g
Cod	9 732 +)	*Kalium natrium tartaricum* pt. a. . .	90 g

Scanned with OKEN Scanner

Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	80 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	2 g
Cod 17 340	*Zincum metallicum pulvis* p. a. . . .	250 g
Cod 21 040	*Papier lackmus neutrale*	100 de benzi

Dozarea proteinelor

Cod 1 521 A	*Acidum sulfuricum anhydricum* p. a. .	250 ml
Cod 3 210	*Amylum solubile* pt. a.	1 g
Cod 6 032	*Cuprum sulfuricum anhydricum* p. a. .	15 g
Cod 9 695 b	*Kalium jodatum* p. a.	5 g
Cod 9 700	*Kalium jodicum* p. a.	25 g
Cod 9 769 +)	*Kalium permanganicum* pt. a.	6 g
Cod 11 862	*Natrium chloratum* pt. a.	40 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	250 g
Cod 18 034	*Acidum hydrochloricum* N/10	500 ml
Cod 18 556	*Natrium thiosulfuricum* N/10	600 ml

Scanned with OKEN Scanner

INDEX

Cod :

38 *Acetonum* pt. a. N.I.R.
136 *Acidum aceticum anhydricum* p. a.
139 *Acidum aceticum glaciale* pt. a. Stas 1 409-50
242 +) *Acidum aminobenzolsulfonicum para* pt. a. Stas 4 466-54
361 *Acidum amino succinicum* D.L. p. a.
495 *Acidum benzoicum* p. a.
581 *Acidum carbolicum cryst.* p. a.
595 *Acidum α-cetoglutaricum* p. a.
688 *Acidum citricum* pt. a. N.I.R.
691 *Acidum citricum cryst.* p. a.
729 5—5 *Acidum diaethylbarbituricum* p. a.
931 *Acidum hydrochloricum* D = 1,19 p. a.
932 *Acidum hydrochloricum* 25 % D = 1,124—1,126 p. a.
1 005 *Acidum iodaceticum mono* p. a.
1 094 *Acidum molibdaenicum* p. a.
1 186 +) *Acidum nitricum* 42° Bé D = 1,40 67 % pt. a. Stas 2033-51
1 189 C *Acidum nitricum* p. a. D = 1,40
1 189 *Acidum nitricum* (—Cl, Pb) D = 1,42 p. a.
1 193 *Acidum nitricum fumans* D = 1,52 p. a.
1 249 *Acidum oxalicum* p. a.
1 366 *Acidum phosphoricum* 85 % D = 1,71 p. a.
1 397 *Acidum picricum* p. a.
1 507 *Acidum sulfosalicylicum* p. a.
1 512 +) *Acidum sulfuricum* D = 1,83
1 517 *Acidum sulfuricum* D = 1,84 (—As) p. a.
1 521 A *Acidum sulfuricum anh.* p. a.
1 546 *Acidum tartaricum cryst.* p. a.
1 609 *Acidum trichloraceticum* p. a.
1 640 *Acidum uricum* p. a.
1 770 *Aether aethylicus* pt. a. N.I.R.
1 774 *Aether aethylicus anh.* p. a.
2 303 *Alanin* D.L. p. a.
2 334 +) *Alcohol aethylicus 90°* pt. a. N.I.R.
2 336 a *Alcohol aethylicus absolutus* p. a.
2 417 *Alcohol methylicus* p. a.

Scanned with OKEN Scanner

Cod :

2 432 *Alcohol octylicus normale primar* p. a.
2 884 +) *Ammonia liquida* pt. a. Stas 934-56
3 007 *Ammonium molibdaenicum cryst.* pt. a.
3 016 *Ammonium nitricum* p. a.
3 024 +) *Ammonium oxalicum* pt. a. N.I.R.
3 103 +) *Ammonium sulfuricum* pt. a. Stas 2 663-51
3 210 *Amylum solubile* pt. a. Stas 5 464-56
3 277 *Anilinum* p. a.
3 431 *Argentum nitricum* p. a.
3 761 +) *Barium chloratum* pt. a. Stas 1 610-51
3 784 +) *Barium hydricum* pt. a. N.I.R.
3 895 *Benzidinum* p. a.
4 287 *Bromum* p. a.
4 683 +) *Cadmium sulfuricum* pt. a. N.I.R.
5 027 A *Calcium carbonicum siccum* p. a.
5 036 +) *Calcium chloratum* pt. a. Stas 2 310-51
5 037 A *Calcium chloratum Sörensen cryst.* p. a.
5 041 +) *Calcium chloratum anhydricum* pt. a. N.I.R.
5 229 *Carboanimalis pulvis* p. a.
5 282 *Caseinum purum*
5 563 +) *Chloroformium* pt. a. N.I.R.
5 628 *Cholesterinum* p. a.
5 801 +) *Cobaltum sulfuricum oxydulatum* pt. a. N.I.R.
5 817 *Coffeinum* p. a.
5 865 *Creatininum* p. a.
6 030 +) *Cuprum sulfuricum oxydatum* pt. a. Stas 4 522—1954
6 032 *Cuprum sulfuricum anhydricum* p. a.
6 625 *Digitoninum cryst.* p. a.
6 703 *Dimethylamino azo benzol para* p. a.
6 718 *Dimethylamino benzaldehydum para* p. a.
6 823 *Dinitro benzolum meta* p. a.
6 863 *2-4-Dinitro phenyl hydrasinum* p. a.
7 619 a *Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.
7 645 +) *Ferrum chloratum oxydatum anhydricum* p. a. N.I.R.
7 738 *Ferrum sesquichloratum cryst.* p. a.
7 809 *Formaldehydum* 40% p. a.
7 839 *Fructuose 1-6-diphosphoricum dibarium sal purum*
8 003 *Galactose D purissim.*
8 088 *Glucose D purum*
8 089 *Glucose* D. p. a.
8 094 *Glucose anhydricum* p. a.
8 154 *Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.
8 716 A *Hydrargyrum bichloratum cryst.* p. a.
8 779 *Hydrargyrum oxydatum rubrum* p. a.
8 840 +) *Hydrasinum sufluricum* p. a.
8 853 *Hydrochinonum* p. a.
8 859 *Hydrogenium peroxydatum* 30% p. a.
9 372 *Jodum mettalicum* p. a.
9 374 *Jodum metallicum resublimatum pss.*

Scanned with OKEN Scanner

Cod :

9 600 +) *Kalium chloratum cryst.* pt. a. Stas 3 133-52
9 614 *Kalium chromicum* p. a.
9 639 *Kalium ferri cyanatum* p. a.
9 641 +) *Kalium ferro cyanatum* pt. a. Stas 4 520-51
9 672 *Kalium hydricum in rotulis* p. a.
9 695 b *Kalium jodatum* p. a.
9 700 *Kalium jodicum* p. a.
9 732 +) *Kalium natrium tartaricum* pt. a. Stas 1 609-52
9 767 *Kalium permanganicum* p. a.
9 769 +) *Kalium permanganicum* pt. a. N.I.R.
9 786 *Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.
9 787 a *Kalium phosphoricum monobasicum Sörensen* p. a.
9 823 *Kalium rhodanatum* p. a.
9 856 +) *Kalium sulfuricum* pt. a. Stas 2 977-52
10 332 *Lithium carbonicum pulvis* p. a.
10 374 *Lithium sulfuricum* p. a.
10 741 +) *Magnesium sulfuricum purificat* N.I.R.
11 588 *α-naphtylaminum* p. a.
11 638 +) *Natrium aceticum cryst.* pt. a. Stas 992-52
11 641 *Natrium aceticum* p. a.
11 731 *Natrium benzoicum pulvis puriss.*
11 732 *Natrium benzoicum pulvis* p. a.
11 741 *Natrium bicarbonicum* p. a.
11 743 +) *Natrium bicarbonicum* pt. a. Stas 4 818-55
11 840 +) *Natrium carbonicum cryst.* pt. a. Stas 2 192-51
11 843 B *Natrium carbonicum anhydricum* p. a.
11 847 +) *Natrium carbonicum siccum* pt. a. Stas 1 200-51
11 862 *Natrium chloratum* pt. a. Stas 1 326-51
11 864 A *Natrium chloratum Sörensen* p. a.
11 900 +) *Natrium citricum tribasicum* chimic pur N.I.R.
11 920 5-5 *Natrium diaethylbarbituricum* p. a.
11 952 *Natrium fluoratum* p. a.
11 978 *Natrium glicerophosphoricum beta* p. a.
12 009 *Natrium hydricum in rotulis* p. a.
12 053 +) *Natrium jodatum* pt. a. N.I.R.
12 122 *Natrium nitroprusicum* p. a.
12 124 *Natrium nitrosum in baccilis* p. a.
12 235 *Natrium phosphowolframicum* p. a.
12 360 +) *Natrium sulfuricum siccum* pt. a. N.I.R.
12 367 *Natrium sulfurosum cryst.* p. a.
12 415 *Natrium thiosulfuricum* p. a.
12 429 *Natrium wolframicum* p. a.
13 334 *Oleum olivarum purum*
14 146 +) *Plumbum aceticum* pt. a. Stas 3 266-52
14 730 *Resorcinum resublimatum* p. a.
15 010 *Sacharum lactis* p. a.
15 466 +) *Sulfum sublimatum pulvis purif.* N.I.R.
16 052 *Thymolum cryst* p. a.
16 138 *Toluolum* p. a.
17 253 +) *Zincum aceticum* pt. a. N.I.R.

Scanned with OKEN Scanner

Cod :	
17 340	*Zincum metallicum pulvis* p. a.
17 398 +)	*Zincum sulfuricum* pt. a. Stas 5 350-56
18 028	*Acidum hydrochloricum* N/1
18 034	*Acidum hydrochloricum* N/10
18 068	*Acidum oxalicum* N/10
18 096	*Acidum sulfuricum* N/1
18 098	*Acidum sulfuricum* N/2
18 100	*Acidum sulfuricum* N/5
18 106	*Acidum sulfuricum* N/10
18 166	*Argentum nitricum* N/1
18 170	*Argentum nitricum* N/10
18 174	*Argentum nitricum* N/50
18 406	*Kalium permanganicum* N/10
18 416	*Kalium thyocyanatum* N/10
18 474	*Natrium carbonicum* N/10
18 486	*Natrium chloratum* N/10
18 494	*Natrium hydricum* N/1
18 496	*Natrium hydricum* N/2
18 504	*Natrium hydricum* N/10
18 556	*Natrium thyosulfuricum* N/10
19 011	*Brom phenol blau*
19 023	*Brom thymol blau*
19 162	*Congo rot*
19 626	*Fuchsin basicum*
19 865	*Kresol rot*
20 092	*Methyl rot cryst.*
20 370	*Orange III (Methyl orange)*
20 482	*Phenolphtaleinum*
20 490	*Phenol rot*
20 756	*Sudan III*
21 040	*Papier lackmus neutrale*
21 190	*Papier universal Indikator* pH 0—12 viraj 0,10—0,3 serie
21 192	*Papier universal Indikator* pH 0,4—1,4
21 271	*Papier Indikator* pH 7,2—9,5
21 273	*Papier Indikator* pH 6,6—8 cum Farbskala Merck 9 557
21 285	*Papier Indikator* pH 6—8

Scanned with OKEN Scanner

INDICATORUL UNOR FORMULE ŞI INDEXUL ALFABETIC DE REACTIVI CARE SE FOLOSESC ÎN ANALIZELE BACTERIOLOGICE

FORMULE

I. TEHNICI GENERALE

3. Prepararea coloranţilor

a) *Prepararea soluţiei de albastru de metilen*

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a.	10 g
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 120	*Methylen blau*	5 g
	Alcohol aethylicus 96°	50 ml

b) *Prepararea soluţiei de albastru de metilen alcalin Löffler*

Cod 20 120	*Methylen blau*	15 g
	Kalium hydroxyd soluţie 1%	5 ml

c) *Prepararea soluţiei de albastru de metilen boraxat Manson*

Cod 11 803	*Natrium boracicum ustum.* p. a.	25 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	10 g

d) *Prepararea soluţiei mamă de fucsină fenicată*

Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	10 g
	Alcohol aethylicus 96°	100 ml

e) *Prepararea soluţiei de fucsină fenicată Ziehl*

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a.	25 g
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	5 g

Scanned with OKEN Scanner

f) *Prepararea soluției mamă de violet de gențiana*

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst* p. a. . . .	10 g
Cod 19 714	*Gențiana violet*	5 g
	Alcohol aethylicus 96°	50 ml

g) *Prepararea soluției apoase de violet de metil 0,2%*

Cod 19 714	*Gențiana violet*	1 g

h) *Prepararea soluției alcoolice de violet de metil*

Cod 19 714	*Gențiana violet*	1 g
	Alcohol aethylicus 96°	5 ml

i) *Prepararea soluțiilor Neisser*

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	7,5 g
Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	30 g
Cod 19 714	*Gențiana violet*	1 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	0,15 g

j) *Prepararea soluției de crisoidină*

Cod 19 145	*Chrisoidinum*	1 g

k) *Prepararea soluției Lugol*

Cod 9 372	*Jodum metallicum* p. a.	1 g
Cod 9 700	*Kalium jodicum* p. a.	2 g

l) *Prepararea soluției Lugol lactat* (mordant)

Cod 1 023	*Acidum lacticum* D = 1,21 *purum* . .	1 ml
Cod 10 384	*Lugolum solutio* p. a.	100 ml

4. Tehnici uzuale de colorare

Colorarea corpului bacterian

a) *Coloratia cu albastru de metilen*

Cod 20 120	*Methylen blau*	0,15 g

b) *Coloratia Gram*

Cod 38	*Acetonum* pt. a.	50 ml
Cod 10 384	*Lugolum solutio* p. a.	500 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 19 714	*Gențiana violet*	5 g
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	0,50 g
	Alcohol aethylicus 96°	500 ml

Scanned with OKEN Scanner

c) *Coloraţia Ziehl-Neelsen*

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	35 g
Cod 1 193	*Acidum nitricum fumans* D=1,52 p. a.	150 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	5 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	5 g

d) *Coloraţia May-Grünwald-Giemsa*

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Soluţie Giemsa*	15 ml
	Soluţie May-Grünwald	200 ml

e) *Coloraţia Fontana-Tribondeau*

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	5 ml
Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	5 g
Cod 843	*Acidum gallotannicum anhydricum purum*	25 g
Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	100 ml
Cod 2 883	*Ammonia liquida* p. a.	50 ml
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	25 g
Cod 3 732	*Balsamum canadense neutrale purum*	50 g
Cod 7 807	*Formaldehydum* 40% *purum*	100 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 g

f) *Coloraţia Neisser*

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	7,5 g
Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	30 ml
Cod 9 372	*Jodum metallicum* p. a.	1 g
Cod 9 695 +)	*Kalium jodatum* p. a.	2 g
Cod 19 145	*Chrisoidinum*	1 g
Cod 19 714	*Genţiana violet*	1 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	0,15 g

g) *Coloraţia Burri cu tuş de China*

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 19 090	*China Tusche*	25 ml

Colorarea capsulei

a) *Metoda de colorare cu soluţia albastru de metilen Löffler verde*

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 120	*Methylen blau*	15 g
	Kaliu hydroxyd soluţie 1%	5 ml

Scanned with OKEN Scanner

b) *Metoda Burri cu tuş de China*

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a.	125 g
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 19 090	*China Tusche*	25 ml
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	0,50 g
	Alcohol aethylicus 96°	5 ml

c) *Metoda Ziehl-Neelsen modificată*

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a.	35 ml
Cod 2 419 +)	*Alcohol metyhlicus* pt. a.	500 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	5 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	5 g
	Alcohol aethylicus 96°	100 ml
	Reactiv Muir	500 ml

Colorarea sporilor

a) *Metoda Gray — modificată*

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a.	1,25 g
Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a.	5 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	0,50 g
Cod 20 046	*Malachit grün*	15 g

b) *Metoda Ziehl Neelsen — modificată*

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a.	35 g
Cod 1 515 A	*Acidum sulfuricum* D = 1,84 *purum*	100 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	5 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	5 g
	Alcohol aethylicus 96°	100 ml

Colorarea cililor

a) *Metoda Casares-Gill cu impregnaţie argentică*

Cod 843	*Acidum gallotannicum anhydricum purum*	10 g
Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a.	30 ml
Cod 2 633	*Aluminium chloratum cryst. pss.*	18 g
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	10 g
Cod 3 732	*Balsamum canadense neutrale purum*	50 g
Cod 17 280	*Zincum chloratum anhydricum* p. a.	10 g
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	3 g

b) *Metoda Casares-Gill cu fucsină fenicată Ziehl*

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a.	35 g
Cod 843	*Acidum gallotannicum anhydricum purum*	18 g
Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a.	80 ml

Scanned with OKEN Scanner

Cod 2 633	*Aluminium chloratum cryst. pss.* . .	18 g
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 17 280	*Zincum chloratum anhydricum* p. a. .	18 g
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	13 g

II. TEHNICI SPECIALE

1. Medii de cultură

a) *Controlul sterilizării*

Cod 3 975	*Benzonaphtolum beta purum*	500 g
Cod 20 706	*Safraninum T*	0,05 g
Cod 495	*Acidum benzoicum* p. a.	500 g
Cod 20 046	*Malachit grün*	0,05 g

b) *Determinarea pH-ului mediilor de cultură*

Cod 931	*Acidum hydrochloricum* D = 1,19 p. a.	500 ml
Cod 6 856	*(2-4-) α-dinitrophenol* p. a.	0,20 g
Cod 6 858	*(2-5) γ-dinitrophenol* p. a.	0,20 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	50 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	100 g
Cod 12 679	*Nitrophenolum meta* p. a.	1 g
Cod 12 683	*Nitrophenolum para* p. a.	0,40 g

c) *Prepararea mediilor de cultură uzuale*

Bulionul simplu peptonizat

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	50 g
Cod 13 743	*Peptonum siccum ex carne purum* . .	15 g

Bulionul cu zaharuri (glucoză-lactoză)

Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	400 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	100 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	20 g
Cod 13 743	*Peptonum siccum ex carne purum* . .	200 g

Bulionul lactozat pentru analiza apei

Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	25 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	125 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	250 g

Bulionul cu extract de carne

Cod 7 775	*Fleisch extrakt Lablenco purum* . . .	20 g
	sau	
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	20 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	10 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	2 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	20 g

Scanned with OKEN Scanner

Bulionul glicerinat

Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	400 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	50 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	100 g

Apă peptonată

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	50 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	10 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	10 g

Mediul Truche lichid

Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	3 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	50 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	1,5 g
Cod 13 753	*Peptonum Chapoteaux purum*	50 g
	sau	
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	50 g

Mediul Truche solid

Cod 2 289	*Agar-agar pulvis*	40 g
Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	4 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	10 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	2 g
Cod 13 753	*Peptonum Chapoteaux purum*	80 g

Geloză simplă 2%

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	40 g
Cod 7 775	*Fleisch extrakt Lablenco purum* . . .	10 g
	sau	
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	10 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	50 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	1,5 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	20 g

Mediul V. F. (Viţel-ficat)

Cod 931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a. .	100 ml
Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	6—10 g
Cod 9 736 +)	*Kalium nitricum* p. a.	10 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	10 g

Geloză pentru analiza apei

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	150 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	10 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	50 g

Scanned with OKEN Scanner

Agar-ciocolatiu

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	45 g
Cod 7 775	*Fleisch extrakt Lablenco purum*	6 g
	sau	
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	6 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	7,5 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	1,5 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	15 g

Mediul Veillon

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	20 g
Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	20 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	7,5 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	2 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	20 g

Mediul Bordet-Gengou

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	80 g
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	100 ml
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	10 g

Mediul cu carne prăjită

Cod 7 775	*Fleisch extrakt Lablenco purum*	15 g
	sau	
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	15 g
Cod 8 089	*Glucose D* p. a.	6 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	15 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	3 g
Cod 13 340	*Oleum paraffini* D=0,890 *purum*	300 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	30 g

Mediul cu lapte

Cod 20 002	*Lackmus* pur	100 g

Mediul geloză cu miere

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	22,5 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	15 g

Mediul Sabouraud

Cod 2 289	*Agar-agar pulvis*	30 g
Cod 8 089	*Glucose D* p. a.	80 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	20 g

Scanned with OKEN Scanner

Gelatină

Cod 8 038	*Gelatina* p. a.	250 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	5 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	1 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	10 g

d. *Medii de cultură speciale*

Pentru cultura stafilococului

Mediul hiperclorurat Chapman, lichid

Cod 2 289	*Agar-agar pulvis*	1 g
Cod 7 775	*Fleisch extrakt Lablenco purum*	4 g
	sau	
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	4 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	150 g
Cod 13 761	*Peptonum proteose bacto Difco* nr. 2	10 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	15 g

Mediul hiperclorurat solid

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	30 g
Cod 7 775	*Fleisch extrakt Lablenco purum*	6 g
	sau	
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	6 g
Cod 10 845	*Mannit purum*	15 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	110 g
Cod 13 761	*Peptonum proteose bacto Difco* nr. 2	14 g
Cod 20 490	*Phenol rot*	0,05 g

Mediul hiperclorurat cu sînge

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	60 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	160 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	2 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	20 g

Pentru cultura streptococului

Mediul Pike (de îmbogăţire)

Cod 8 089	*Glucose D* p. a.	1 g
Cod 7 775	*Fleisch extrakt Lablenco purum*	4 g
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	4 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	5 g
Cod 12 130	*Natrium nitrosum cryst. (-alcali)* p. a.	1 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	10 g
Cod 19 714	*Gentiana violet*	1 g

Scanned with OKEN Scanner

Pentru cultura enterobacteriaceelor

Soluția Sachs

a. *Soluții conservante*

Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	300 g
Cod 9 783	*Kalium phosphoricum bibasicum Sörensen* p. a.	3,1 g
Cod 9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	0,1 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	4,2 g
Cod 20 490	*Phenol rot*	0,2 g

Soluția Bangsang și Eliot

Cod 11 760	*Natrium biphosphoricum Sörensen* p. a.	1 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	10 g
Cod 11 916	*Natrium desoxycholicum* p. a.	5 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	1 g
Cod 20 002	*Lackmus* pur	1 g
Cod 20 490	*Phenol rot*	0,2 g

b. *Medii de îmbogățire*

Bulionul tetrathionat Müller-Kauffman

Cod 5 023	*Calcium carbonicum* p. a.	50 g
Cod 9 372	*Jodum metallicum* p. a.	2 g
Cod 9 700	*Kalium jodicum* p. a.	2,5 g
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	50 g
Cod 20 046	*Malachit grün*	1 g

Mediul cu selenit de sodiu

Cod 11 760	*Natrium phosphoricum Sörensen* p. a.	5 g
Cod 11 762	*Natrium biselenosum* p. a.	4 g
Cod 12 217 A	*Natrium phosphoricum bibasicum* p. a.	5 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	5 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	4 g

c. *Medii solide*

Agar verde brillant Krinstensen, Lester Jurgens (K.L.J.)

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	52 g
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	10 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	10 g
Cod 13 749	*Peptonum bacto siccum* p. a.	20 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	15 g
Cod 20 490	*Phenol rot*	0,1 g
	Malachit grün soluție 5%	4 ml

Scanned with OKEN Scanner

Mediul Agar dezoxicolat citrat Leifson (D.C.A.)

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	40 g
Cod 2 964	*Ammonium ferricitricum viride purum*	4 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	50 g
Cod 11 916	*Natrium desoxycholicum* p. a.	10 g
Cod 13 761	*Peptonum proteose bacto Difco* nr. 2	20 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	20 g
Cod 20 217	*Neutral rot*	1 g

Mediul Drigalski

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	50 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	10 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	10 g
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	2 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	20 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	30 g
Cod 19 023	*Brom thimol blau*	0,10 g
Cod 19 714	*Genţiana violet*	0,10 g
Cod 20 002	*Lackmus* pur	10 g

Mediul cu bilă Istrate-Meitert

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	60 g
Cod 7 654 +)	*Ferrum citricum oxidatum in lamelis* pt. a.	4 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	10 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	16 g
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	16 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	20 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	28 g
Cod 19 023	*Brom thimol blau*	0,10 g

Agar S.S.

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	26 g
Cod 7 654 +)	*Ferrum citricum oxidatum in lamelis* pt. a.	1,5 g
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	7,5 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	13 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	2 g
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	13 g
Cod 13 761	*Peptonum proteose bacto Difco* nr. 2	9,5 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	15 g
Cod 20 046	*Malachit grün*	0,01 g
Cod 20 217	*Neutral rot*	0,05 g
	Săruri biliare nr. 3	13 g

Scanned with OKEN Scanner

Agar albastru de bromthimol-lactoză (L.B.A.)

Cod	2 287	*Agar-agar fillis*	60 g
Cod	7 654 +)	*Ferrum citricum oxidatum in lamelis* pt. a.	4 g
Cod	11 860 +)	*Natrium chloratum chimic purum* . .	10 g
Cod	11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	16 g
Cod	12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	16 g
Cod	13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	20 g
Cod	15 010	*Sacharum lactis* p. a.	20 g
Cod	19 023	*Brom thimol blau*	0,10 g

Mediul Levine

Cod	2 287	*Agar-agar fillis*	40 g
Cod	9 783	*Kalium phosphoricum bibasicum Sörensen* p. a.	40 g
Cod	11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	10 g
Cod	13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	20 g
Cod	15 010	*Sacharum lactis* p. a.	20 g
Cod	19 441	*Eosin gelblich*	0,10 g
Cod	20 120	*Methylen blau*	0,10 g

Mediul Wilson-Blair

Cod	2 287	*Agar-agar fillis*	40 g
Cod	4 155	*Bismuth ammonium citricum* p. a. . .	3 g
Cod	7 750	*Ferrum sulfuricum oxydulatum* p. a. .	2 g
Cod	7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	10 g
Cod	8 089	*Glucose D.* p. a.	10 g
Cod	11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	10 g
Cod	12 217 A	*Natrium phosphoricum bibasicum* p. a.	12,60 g
Cod	12 369	*Natrium sulfurosum sicc.* p. a. . . .	10 g
Cod	13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	20 g
Cod	20 046	*Malachit grün*	0,05 g

Pentru cultura gonococului

Mediul de transport Moffet-Young-Stuart

Cod	1 061	*Acidum mercapto aceticum* 80% p. a.	0,20 g
Cod	2 287	*Agar-agar fillis*	6 g
Cod	5 036 +)	*Calcium chloratum cryst.* pt. a. . . .	0,20 g
Cod	11 975	*Natrium glicerophosphoricum* p. a. . .	10 g
Cod	20 120	*Methylen blau*	0,02 g

Mediul Peitzer şi Steffen

Cod	2 287	*Agar-agar fillis*	50 g
Cod	8 089	*Glucose D* p. a.	2 g

Scanned with OKEN Scanner

Cod 11 760	*Natrium biphosphoricum Sörensen* p. a.	2	g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	10	g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	40	g

Pentru cultura bacilului difteric

Mediul de îmbogățire O.C.S.T.

Cod 6 118	*Cystinum D.L. purum*	0,50	g
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	2,50	g
Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	1	g
Cod 9 874	*Kalium telluricum* p. a.	1	g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	2,5	g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	5	g
	Ser normal de bou sau cal, produs al Inst. „Dr. I. Cantacuzino“ 20 ml .	30	fiole

Mediul Clauberg

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	40	g
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	4	g
Cod 8 089	*Glucose D.* pt. a.	30	g
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	100	g
Cod 9 874	*Kalium telluricum* p. a.	1	g
Cod 11 637	*Natrium aceticum anhydricum* p. a. . .	3	g
Cod 11 760	*Natrium biphosphoricum Sörensen* p. a.	2	g
Cod 11 843	*Natrium carbonicum anhydricum* p. a.	1	g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	6	g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	10	g
Cod 18 754	*Anilin blau aqua solubile*	0,25	g

Mediul Gundel-Tietz

Cod 6 118	*Cystinum D.L. purum*	1	g
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	8	g
Cod 9 874	*Kalium telluricum* p. a.	1	g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	10	g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	20	g

Mediul pentru cercetarea cisteinazei (reducerea de H_2S)

Cod 6 118	*Cystinum D.L. purum*	0,1	g
Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	2,5	g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	2,5	g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	5	g
Cod 14 148	*Plumbum aceticum basicum cryst. purum*	5	g
	Ser normal de bou	1	fiolă

Mediul cu ser coagulat de bou (Löeffler)

Cod 7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	2	g
Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	3	g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	2,5	g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	5	g
	Ser normal de bou	1 500	ml

Scanned with OKEN Scanner

Pentru cultura bacilului Koch

Mediul Löwenstein

Cod	3 544	*Asparaginum D.L. purum*	30 g
Cod	8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	1 300 g
Cod	9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	10 g
Cod	10 742 +)	*Magnesium sulfuricum* pt. a.	10 g
Cod	11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	10 g
Cod	20 046	*Malachit grün*	10 g

Mediul Sauton

Cod	693	*Acidum citricum Sörensen cryst.* p. a.	4 g
Cod	2 964	*Ammonium ferricitricum viride purum*	0,1 g
Cod	3 544	*Asparaginum D.L. purum*	8 g
Cod	8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	120 g
Cod	9 783	*Kalium phosphoricum bibasicum Sörensen* p. a.	1 g
Cod	10 742 +)	*Magnesium sulfuricum* pt. a.	10 g

2 Reacţii biochimice pentru identificarea germenilor

Fermentaţia hidraţilor de carbon şi alcoolilor

Cod	1 721	*Adoniton* p. a.	1 g
Cod	3 352	*Arabinosa D.L.* p. a.	1 g
Cod	5 312	*Cellobiosa purum*	1 g
Cod	7 041	*Dulcit* p. a.	1 g
Cod	7 043	*Dulcit izo-* p. a.	1 g
Cod	7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	2 g
Cod	8 005	*Galactose D* p. a.	1 g
Cod	8 089	*Glucose D.* p. a.	1 g
Cod	9 265	*Inositum* p. a.	1 g
Cod	10 845	*Mannitum purum*	1 g
Cod	11 760	*Natrium biphosphoricum Sörensen* p. a.	1 g
Cod	11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	1,2 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.	4 g
Cod	13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	4 g
Cod	14 701	*Rafinosa anhydrica* p. a.	1 g
Cod	15 005	*Sacharosa* p. a.	1 g
Cod	15 010	*Sacharum lactis* p. a.	1 g
Cod	15 022	*Salicin purum*	1 g
Cod	15 188	*Sorbitolum D.L.* p. a.	1 g
Cod	16 174	*Trehalosa* p. a.	1 g
Cod	16 998	*Xylosum D.L.* p. a.	1 g
Cod	20 490	*Phenol rot*	1 g

Producerea de indol

Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19	40 ml
Cod	1 249	*Acidum oxalicum cryst.* p. a.	10 g
Cod	2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a.	190 ml

Scanned with OKEN Scanner

Cod 6 718	*Para dimenthyl amido benzaldehydum para* p. a.	2 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	2,5 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	5 g

Producerea de hidrogen sulfurat

Testul cu gelatină cloruroferoasă

Cod 7 641	*Ferrum chloratum oxydulatum* p. a. .	0,25 g
Cod 8 038	*Gelatina* p. a.	60 g
Cod 7 777	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	3,25 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	2,5 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	7,5 g

Testul cu apă peptonată

Cod 14 148	*Plumbum aceticum basicum cryst. purum*	20 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	1,5 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	6 g

Reacţia roşului de metil

Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	300 ml
Cod 8 089	*Glucose D* p. a.	5 g
Cod 9 783	*Kalium phosphoricum bibasicum Sörensen* p. a.	5 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	5 g
Cod 20 096	*Methyl rot aqua solubile*	0,1 g

Testul Voges-Proskauer pentru acetilmetilcarbinol

Cod 8 089	*Glucose D.* p. a.	5 g
Cod 9 672	*Kalium hydricum in rotulis* p. a. . .	25 g
Cod 9 783	*Kalium phosphoricum bibasicum Sörensen* p. a.	50 g
Cod 11 560	*α-naphtolum pulvis* p. a.	6 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	5 g

Testul Koser pentru utilizarea citratului ca sursă de carbon

Cod 2 287	*Agar-agar fillis*	4 g
Cod 3 039 +)	*Ammonium phosphoricum monobasicum* pt. a.	0,2 g
Cod 9 783	*Kalium phosphoricum bibasicum Sörensen* p. a.	50 g
Cod 10 742 +)	*Magnesium sulfuricum* pt. a.	0,2 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	1 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum chimic pur*	1 g

Scanned with OKEN Scanner

Testul de inhibiție cu cianură de potasiu sau proteosă-peptonă (Moeller)

Cod	9 783	*Kalium phosphoricum bibasicum Sörensen* p. a.	0,6 g
Cod	9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	0,02 g
Cod	11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	5 g
Cod	13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	10 g

Testul reducerii nitraților în nitriți

Mediul cu apă peptonată

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum*	150 ml
Cod	242 +)	*Acidum sulfanilicum* pt. a.	0,8 g
Cod	9 736 +)	*Kalium nitricum* pt. a.	0,1 g
Cod	11 587	*α-naphtylaminum purum*	0,5 g
Cod	13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	2,5 g

Testul ureazei (Cristensen modificat)

Cod	9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	2 g
Cod	11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	5 g
Cod	13 749	*Peptonum bacto siccum* p. a.	1 g
Cod	19 196	*Cresol sulfon phtalein orto*	1,1 g

Testul decarboxilazei

Cod	859	*Acidum glutaminicum L*	1 g
Cod	3 463	*Argininum L. Difco*	1 g
Cod	7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	2 g
Cod	8 089	*Glucose D* p. a.	0,2 g
Cod	10 401	*Lysinum L. purum*	1 g
Cod	13 749	*Peptonum bacto sicc.* p. a.	2 g
Cod	14 389	*Pyridoxal purum*	1 g
Cod	19 003	*Brom cresol purpur*	0,1 g
Cod	19 196	*Cresol sulfon phtalein orto*	0,1 g

Testul bulion glicerină-fucsină Stern

Cod	7 775	*Fleisch extrakt Lablenko purum*	20 g
Cod	7 776	*Fleisch extrakt Liebig* p. a.	20 g
Cod	11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	5 g
Cod	13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*	20 g
Cod	12 369	*Natrium sulfurosum sicc.* p. a.	1 g
Cod	19 626	*Fuchsin basicum*	1 g

Agarul feros triplu zahăr Kligler

Cod	2 287	*Agar-agar fillis*	9,6 g
		Extract drojdie	2,4 g

Scanned with OKEN Scanner

Cod	7 776	*Fleisch extrakt Liebig purum* . . .	2,4 g
Cod	7 750	*Ferrum sulfuricum oxydulatum* p. a. .	0,16 g
Cod	8 089	*Glucose D* p. a.	0,8 g
Cod	11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	4 g
Cod	12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	0,24 g
Cod	13 749	*Peptonum bacto siccum* p. a.	12 g
Cod	13 761	*Peptonum proteose bacto Difco nr. 2* .	4 g
Cod	15 005	*Sacharosa* p. a.	8 g
Cod	15 010	*Sacharum lactis* p. a.	8 g
Cod	20 490	*Phenol rot*	0,0192 g

n. *Mediul Gabrielli (motilitate, indol, uree M.I.U.)*

Cod	2 287	*Agar-agar fillis*	3 g
Cod	9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	2 g
Cod	11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	5 g
Cod	13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	30 g
Cod	16 442 +)	*Urea* pt. a.	20 g
Cod	20 490	*Phenol rot*	0,2 g

III. TESTĂRI IMUNOLOGICE ŞI SEROLOGICE

1. Reacţii pentru testarea stării de alergie sau a stării de receptivitate faţă de bolile transmisibile

a) *Reacţia Schick*

Toxină Schick pentru I.D.R.	100 de fiole
Toxină martor inactivă	100 de fiole

b) *Intradermoreacţie Dick*

Toxină Dick pentru I.D.R.	100 de fiole
Toxină martor pentru reacţia Dick .	100 de fiole

c) *Intradermoreacţia de stingere Schultz-Charlton*

Ser antiscarlatinos	100 de fiole

d) *Reacţii la tuberculină*

Cutireacţia van Pirquet

Tuberculină brută	100 de fiole

Intradermoreacţia Mantoux

Tuberculină 1/10 000	100 de fiole
Tuberculină 1/1 000	30 de fiole
Tuberculină brută	20 de fiole

Scanned with OKEN Scanner

e) *Intradermoreacţia Casoni*

Antigen Casoni	100 de fiole
Martor	100 de fiole

f) *Intradermoreacţia în trichinoză*

Antigen trichinella spiralis	100 de fiole
Martor	100 de fiole

g) *Intradermoreacţia la tularină*

Tularină	100 de fiole

h) *Intradermoreacţia în bruceloză*

Brucelină	100 de fiole

2. Examene serologice

Reacţii de aglutinare

a) *Reacţia de aglutinare cu antigenul tularemic*

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	8,5 g
	Antigen tularemic a 10 ml	100 de fiole

b) *Reacţia Wright*

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	8,5 g
	Antigen Wright	10 flacoane

c) *Reacţia inelară cu antigenul brucelos*

Antigen brucelos pentru reacţia inelară	2 flacoane

d) *Reacţia Huddleson*

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	0,50 g
	Antigen Huddleson	1 flacon

e) *Reacţia Widal calitativă*

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	8,5 g
	Suspensii formolate tific	2 flacoane
	Suspensii formolate paratific A.H.	2 flacoane
	Suspensii formolate paratific B.H.	2 flacoane
	Suspensii formolate tific O.	2 flacoane
	Suspensii formolate paratific A.O.	2 flacoane
	Suspensii formolate paratific B.O.	2 flacoane

f) *Reacţia Weil-Felix*

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	0,85 g
	Suspensie alcoolică Proteus OX 19	2 flacoane

Scanned with OKEN Scanner

g) *Reacţia Kudicke-Steuer*

	Suspensie alcoolată Proteus OX 19 . .	1	flacon

h) *Reacţia de aglutinare cu antigen Vi*

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	0,85	g
	Antigen formolat tific Vi	5	flacoane

3. Reacţii de fixare a complementului

a) *Reacţia de fixare a complementului în Rickettsia—Prowazecki*

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	8,5	g
	Antigen rickettsian	2	flacoane
	Ser hemolitic Rickettsia Prowazeki pt. R.F.C.	10	fiole

b) *Reacţia de fixare a complementului în leptospiroze*

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	8,5	g
	Antigen leptospiraza Biflexa Patoc . .	8	flacoane
	Ser hemolitic cu antigen leptospira pentru R.F.C.	10	fiole

c) *Reacţia Bordet—Wassermann*

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	8,5	g
	Antigen Bordet-Rouelens	1	flacon
	Ser hemolitic antioaie pt. R.B.W. . .	2	fiole

d) *Reacţia Bordet—Wassermann în lichidul cefalorahidian*

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	4,25	g
	Antigen Bordet-Rouelens	1	flacon
	Hemoliza antioaie pt. R.B.W.	3	fiole

e) *Reacţia Bordet-Wassermann cu antigen cardiolipinic*

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	4,25	g
	Antigen cardiolipinic Behring	1	flacon
	Ser hemolitic antioaie	2	fiole

f) *Reacţia Levaditi-Latapie*

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	2,7	g
	Antigen Bordet-Rouelens	1	flacon

4. Reacţii de floculare

a) *Reacţia de floculare Kahn*

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	1,6	g
	Antigen Kahn	1	flacon

Scanned with OKEN Scanner

b) *Reacţia Citochol*

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	4,25 g
	Antigen Citochol	2 ml

c) *Reacţia de clarifiere Meinicke M.K.R. II*

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	3,5 g
	Antigen Meinicke pentru reacţia de clarifiere	1 flacon

5. Alte reacţii serologice

a) *Reacţia de hemaglutinoinhibare (H.A.I.)*

	Soluţie clorurosodică izotonică . . .	500 ml
	Antigene gripale de tip pentru hemaglutinoinhibare	20 de flacoane

b) *Reacţia de punere în evidenţă a antistreptolizinelor (A.S.L.O.)*

Cod 6 107	*Cysteinum hydrochloricum D.L. purum*	3 g
Cod 9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* pt. a.	2 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	11 g
Cod 12 217 A	*Natrium phosphoricum bibasicum* p. a.	2 g
	Streptolizina O	30 fiole

IV. DIAGNOSTIC BACTERIOLOGIC

1. Diagnosticul infecţiilor prin coci Gram-pozitivi

a) *Infecţii produse de stafilococ*

Cod 237	*Acidum para aminobenzoicum* p. a. . .	0,10 g
Cod 6 107	*Cysteinum hydrochloricum D. L.* pur .	1 g
	Bulion simplu	15 kg
	Penicilinază	200 ml
	Materiale pentru 200 de colorații Gram	
	Materiale pentru 100 de colorații Giemsa	
	Materiale pentru 100 de colorații Ziehl-Neelsen	
	Geloză-sînge	2 000 ml
	Mediul Chapman lichid	1 000 ml
	Mediul Chapman solid	2 000 ml
	Materiale pentru 100 de antibiograme	

b) *Diagnosticul infecţiilor cu streptococ*

Cod 3 700	*Bacitracinum R. purum*	0,10 g
Cod 8 858	*Hydrogenium peroxydatum 30% purum*	100 g

Scanned with OKEN Scanner

Bulion Picke	2 000	ml
Geloză 3%	4 000	ml
Bulion lactozat cu ser	2 000	ml
Mediu Chabert	1 000	ml
Materiale pentru 100 de colorații Gram		
Materiale pentru 100 de colorații Ziehl-Neelsen		
Materiale pentru 100 de colorații May-Grünwald-Giemsa		
Materiale pentru 100 de antibiograme		
Ser precipitant A antistreptococic	100	fiole
Ser precipitant C antistreptococic	100	fiole
Seruri aglutinate de tip antistreptococic	1	serie

c) *Diagnosticul infecțiilor pneumococice*

Cod 9 270	*Inulinum* p. a.	1	g
	Mediul Truche lichid	2 000	ml
	Geloză-sînge	2 000	ml
	Material pentru 100 de antibiograme		
	Seruri aglutinante de grup	100	de fiole
	Seruri aglutinante de tip antipneumococice	10	serii
	Bulion pentru fermentarea zaharurilor	1 000	ml
	Material pentru 100 de colorații Gram		
	Material pentru 100 de colorații albastru de metilen		
	Săruri biliare nr. 3	100	g

d) *Diagnosticul infecțiilor produse de meningococ*

Bulion ascită	1 000	ml
Geloză-sînge	2 000	ml
Geloză-șocolată	2 000	ml
Ser polivalent antimeningococic	100	de fiole
Ser antimeningococic de tip	10	serii
Material pentru 100 de antibiograme		
Material pentru 100 de colorații Gram		

e) *Diagnosticul infecțiilor cu gonococ*

Mediul Moffet	1 000	ml
Mediul Steffen și Peitzzer	1 000	ml
Geloză-șocolată	2 000	ml

Scanned with OKEN Scanner

Geloză-ser . . . . . 1 000 ml
Bulion-ser . . . . . 1 000 ml
Material pentru 100 de antibiograme
Material pentru 300 de colorații Gram
Material pentru 300 de colorații cu albastru de metilen

2. Diagnosticul de laborator al enterobacteriaceelor

a) *Diagnosticul și clasificarea enterobacteriaceelor*

Geloză simplă 2% pH = 7,6 . . . . 2 000 g
Geloză lactozată cu albastru de metilen L.A.B. . . . . 2 000 g
Mediul cu bilă Istrate Meitert (M.I.) . 2 000 g
Mediul Kristensen-Lester Jurgens (K.L.J.) . . . . . 2 000 g
Mediul agar desoxicolat Leifson (A.D.) 2 000 g
Mediul (S.S.) . . . . . 2 000 g
Mediul triplu zahăr Klinger T.S.I. . . 2 000 g
Mediul Gabrieli (M.I.U.) . . . . . 2 000 g
Mediul Wilson-Blair (W.B.) . . . . . 2 000 g
Mediul Levine (L.) . . . . . 2 000 g
Mediul Müller-Kauffman (M.K.) . . . 2 000 g
Mediul Selenit (M.S.) . . . . . 2 000 g
Medii și reactivi pentru testul de fermentare a glucidelor . . . . . 2 000 g
Mediul pentru producerea indolului . 1 000 g
Medii și reactivi pentru producerea hidrogenului sulfurat . . . . . 1 000 g
Medii și reactivi pentru reacția roșu de metil . . . . . 1 000 ml
Medii și reactivi pentru reacția Voges-Proskauer pentru 100 de testări
Medii pentru utilizarea citratului Coser pentru 100 de testări
Medii pentru testul de inhibiție cu K.C.N. pentru 100 de testări
Medii și reactivi pentru reducerea nitraților pentru 100 de testări
Medii și reactivi pentru testul ureazei pentru 100 de testări
Medii și reactivi pentru testul decarboxilazei pentru 100 de testări
Medii și reactivi pentru lichefierea gelatinei pentru 100 de testări
Medii și reactivi pentru reacția Stern pentru 100 de testări
Medii și reactivi pentru testul cu malonat pentru 100 de testări

Scanned with OKEN Scanner

Seruri aglutinante :

Salmonella polivalent şi de tip . . .	2 serii
Shigella polivalent şi de tip	2 serii
Anticoli patogeni polivalent şi de tip	2 serii
Suspensii alcoolate şi formolate pentru reacţia Widal şi Vi pentru 100 de testări	

Coloranţi :

pentru metoda Gram pentru 200 de colorații	
pentru coloraţia cililor pentru 100 de colorații	

b) *Diagnosticul bacteriologic al salmonelozelor*

Geloză simplă 2% pH = 7,6	2 000 g
Geloză lactozată cu albastru de metilen (L.A.B.)	2 000 g
Mediu cu bilă Istrate Meitert (I.M.) . .	2 000 g
Mediu Kristensen-Lester Jurgens (K.L.J.)	2 000 g
Mediu agar dezoxicolat Leifson (A.D)	2 000 g
Mediu (S.S.)	2 000 g
Mediu triplu zahăr Klinger (T.S.I.) . .	2 000 g
Mediu Gabrieli (M.I.U.)	2 000 g
Mediu Wilson-Blair (W.B.)	2 000 g
Mediu Levine (L.)	2 000 g
Mediu Müller-Kauffmann (M.K.) . .	2 000 g
Mediu Selenit (M.S.)	2 000 g
Medii şi reactivi pentru testul de fermentare a glucidelor	2 000 g
Mediu pentru producerea indolului . .	1 000 g
Medii şi reactivi pentru producerea hidrogenului sulfurat	1 000 g
Medii şi reactivi pentru reacţia roşu de metil	1 000 g
Mediu şi reactivi pentru reacţia Voges-Proskauer pentru 100 de testări	
Medii pentru utilizarea citratului Coser pentru 100 de testări	
Medii pentru testul de inhibiţie cu K.C.N. pentru 100 de testări	
Medii şi reactivi pentru reducerea nitraţilor pentru 100 de testări	
Medii şi reactivi pentru testul ureazei pentru 100 de testări	
Medii şi reactivi pentru testul decarboxilazei pentru 100 de testări	

Scanned with OKEN Scanner

Medii şi reactivi pentru lichefierea gelatinei pentru 100 de testări

Medii şi reactivi pentru reacţia Stern pentru 100 de testări

Medii şi reactivi pentru testul cu malonat pentru 100 de testări

Seruri aglutinante :

Salmonella polivalent şi de tip . . .	2 serii
Shigella polivalent şi de tip	2 serii
Anticoli patogeni polivalent şi de tip	2 serii

Suspensii alcoolate şi formolate pentru reacţia Widal şi Vi pentru 100 de testări

Coloranţi :

pentru metoda Gram pentru 200 de colorăţii

pentru coloraţia cililor pentru 100 de colorăţii

c) *Diagnosticul de laborator al infecţiilor cu bacili dizenterici*

Mediul Istrate Meitert	2 000 g
Mediul agar lactoză bromthimol . . .	2 000 g
Geloză simplă 2% pH = 7,6	2 000 g
Mediu cu zaharuri	2 000 g
Seruri aglutinante anti-Shigella de grup şi de tip	2 serii

Material pentru 100 de antibiograme

Material pentru 100 de teste de motilitate . . . . . .

Material pentru 200 de colorăţii Gram

d) *Diagnosticul infecţiilor cu escherichia coli*

Mediul Istrate Meitert	2 000 g
Mediul Drigalsky	2 000 g
Mediul Levine	2 000 g
Bulion pentru hemoculturi	5 000 g

Materiale pentru 100 de teste pentru indol

Materiale pentru 100 teste roşu metil

Materiale pentru 100 de teste Voges-Proskauer

Scanned with OKEN Scanner

Mediul Coser . . . . . 2 000 g
Materiale pentru 100 de antibiograme
Materiale pentru 200 de coloraţii Gram

e) *Diagnosticul infecţiilor cu germeni din grupul proteus*

Mediul Istrate Meitert . . . . . 2 000 g
Bulion simplu . . . . . 2 000 ml
Materiale pentru antibiograme
Materiale pentru 100 de coloraţii Gram

f) *Diagnosticul de laborator al toxiinfecţiilor alimentare*

Geloză simplă 2% pH = 7,6 . . . . 2 000 g
Geloză lactozată cu albastru de metilen (L.A.B.) . . . . . 2 000 g
Mediu cu bilă Istrate Meitert (I.M.) . 2 000 g
Mediu Kristensen-Lester Jurgens (K.L.J.) . . . . . 2 000 g
Mediu agar dezoxicolat Leifson (A.D.) 2 000 g
Mediu S.S. . . . . . 2 000 g
Mediu triplu zahar Klinger (T.S.I.) . . 2 000 g
Mediu Gabrieli (M.I.U.) . . . . . 2 000 g
Mediu Wilson-Blair (W.B.) . . . . . 2 000 g
Mediu Levine (L.) . . . . . 2 000 g
Mediu Müller Kauffmann (M.K.) . . 2 000 g
Mediu Selenit (M.S.) . . . . . 2 000 g
Medii şi reactivi pentru testul de fermentare a glucidelor . . . . . 2 000 g
Mediu pentru producerea indolului . . 1 000 g
Medii şi reactivi pentru producerea hidrogenului sulfurat . . . . . 1 000 g
Medii şi reactivi pentru reacţia roşu de metil . . . . . 1 000 g
Medii şi reactivi pentru reacţia Voges-Proskauer pentru 100 de testări
Medii pentru utilizarea citratului Coser pentru 100 de testări
Medii pentru testul de inhibiţie cu K.C.N. pentru 100 de testări
Medii şi reactivi pentru reducerea nitraţilor pentru 100 de testări
Medii şi reactivi pentru testul ureazei pentru 100 de testări
Medii şi reactivi pentru testul decarboxilazei pentru 100 de testări
Medii şi reactivi pentru lichefierea gelatinei pentru 100 de testări
Medii şi reactivi pentru reacţia Stern pentru 100 de testări
Medii şi reactivi pentru testul cu malonat pentru 100 de testări

Scanned with OKEN Scanner

Seruri aglutinante :

Salmonella polivalent şi de tip . . .	2 serii
Shigella polivalent şi de tip	2 serii
Anticoli patogeni polivalent şi de tip	2 serii
Suspensii alcoolate şi formolate pentru reacţia Widal şi Vi pentru 100 de testări	

Coloranţi :

Pentru metoda Gram pentru 200 de colorații	
Pentru colorația cililor pentru 100 de colorații	

3. Infecţiile cu alţi germeni

a) *Diagnosticul infecţiilor cu Klebsiella*

Geloză-sînge	2 000 g
Geloză simplă	2 000 g
Bulion simplu	2 000 g
Material pentru 100 de antibiograme	
Material pentru 100 de colorații Gram	

b) *Diagnosticul infecţiilor produse de vibrionul holeric*

Cod 516	*Acidum boricum siccum* p. a.	25 g
Cod 6 335	*Dextrinum album puriss.*	10 g
Cod 9 597	*Kalium chloratum* p. a.	30 g
Cod 9 736 +)	*Kalium nitricum* pt. a.	10 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	500 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* pt. a. . .	100 g
Cod 12 369	*Natrium sulfurosum siccum* p. a. . .	10 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	500 g
Cod 15 005	*Sacharosa* p. a.	10 g
Cod 19 532	*Fuchsin diamant*	1 g
	Seruri aglutinante antiholerice . . .	100 de fiole
	Material pentru 100 de antibiograme	
	Material pentru 100 de colorații Gram	

c) *Diagnosticul infecţiilor cu Pseudomonas*

Cod 2 798	*Amino dimenthylanilinum para* p. a. .	1 g
Cod 11 560	*α-naphtolum pulvis* p. a.	1 g
	Geloză-sînge	2 000 ml
	Geloză simplă	2 000 ml
	Bulion simplu	1 500 ml
	Ser coagulat de bou	1 500 ml
	Gelatină	1 500 ml
	Material pentru 100 de antibiograme	
	Material pentru 200 de colorații Gram	

Scanned with OKEN Scanner

d) *Diagnosticul bacteriologic al infecţiilor cu bacili difterici şi cu bacili pseudodifterici*

Ser coagulat Löffler	1 500 ml
Mediul Clauberg	2 000 ml
Mediul Gundel-Tietz	2 000 ml
Geloză sînge	2 000 ml
Mediul O.C.S.T.	500 ml
Materiale pentru 300 de coloraţii Gram	
Materiale pentru 300 de coloraţii Löffler	
Materiale pentru 300 de coloraţii Neisser	
Materiale pentru 100 de teste hidrogen sulfurat	
Materiale pentru 100 de teste fosfataze	
Ser antidifteric 1 000 u.	100 de fiole
Materiale pentru 100 de antibiograme	
Materiale pentru 100 de reacţii Schick	

e) *Diagnosticul listeriozelor*

Bulion ser pentru hemocultură	8 000 g
Geloză-sînge	2 000 g
Geloză-ser	2 000 g
Seruri aglutinante	100 de fiole
Material pentru 100 de antibiograme	
Material pentru 200 de coloraţii Gram	

f) *Diagnosticul brucelozei*

Intradermoreacţia la melitină

Cod 14 148	*Plumbum aceticum basicum cryst. purum*	10 g
	Bulion glucozat pentru hemoculturi	20 000 g
	Bulion glucozat în tuburi	1 000 ml
	Geloză înclinată	3 000 ml
	Materiale pentru 100 de antibiograme	
	Materiale pentru 100 de coloraţii Gram	
	Materiale pentru 100 de reacţii Huddleson	
	Materiale pentru 100 de reacţii Wright	
	Materiale pentru 100 de reacţii inelare	
	Materiale pentru 100 de reacţii de fixare a complementului	
	Melitină	100 de fiole

g) *Diagnosticul de laborator al tularemiei*

Diagnostic prin intradermoreacţie

Cod 6 118	*Cystinum D.L. purum*	0,1 g

Scanned with OKEN Scanner

Cod 8 089	*Glucose D. p. a.*	1 g
	Geloză 2%	500 g
	Materiale pentru 100 de reacţii de aglutinare cu P. tularensis	
	Materiale pentru 100 de I.D.R. la tularină	

h) *Diagnosticul infecţiilor cu Haemophillus influenzae*

	Materiale pentru 200 de colorații Gram	
	Materiale pentru 100 de colorații cu albastru de metilen	
	Materiale pentru 100 de antibiograme	
	Ser H. influenzae de tip pentru reacţia de precipitare	100 de fiole
	Ser H. influenzae de tip pentru umflarea capsulei	100 de fiole
	Agar ciocolatiu	3 000 g
	Geloză sînge	2 000 g
	Bulion glucozat pentru hemoculturi .	5 000 g

Haemophillus Ducrey

	Materiale pentru 200 de colorații Gram	
	Materiale pentru 200 de colorații cu albastru de metilen	
	Materiale pentru 100 de antibiograme	
	Geloză-sînge	2 000 g
	Bulion-sînge	2 000 g
	Apă peptonată	1 500 ml

i) *Diagnosticul infecţiilor produse cu germeni din genul Bordetella*

Cod 2 419 +)	*Alcohol methylicus* pt. a.	500 ml
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	
	Materiale pentru 100 de colorații Gram	
	Materiale pentru 100 de colorații albastru de metilen	
	Mediul Bordet-Gengou	4 000 g
	Materiale pentru 100 de antibiograme	
	Materiale pentru 100 de colorații Giemsa	
	Agar-agar fibre	50 g
	Antigen pertusis pentru I.O.C. . . .	100 de fiole

j) *Diagnosticul bacteriologic al infecţiei cărbunoase*

	Geloză-sînge	2 000 ml
	Geloză simplă	2 000 ml
	Bulion simplu	2 000 ml
	Materiale pentru 100 de antibiograme	
	Materiale pentru 300 de colorații Gram	
	Materiale pentru 300 de colorații albastru de metilen	
	Ser imun anticărbunos	100 de fiole

Scanned with OKEN Scanner

k) *Diagnosticul de laborator al toxiinfecției tetanice*

Cod 13 340	*Oleum paraffini* D = 0,890 *purum* . .	1 000 g
	Materiale pentru 200 de colorații Gram	
	Bulion simplu	10 000 g

l) *Diagnosticul de laborator al infecției botulinice*

Cod 13 340	*Oleum parafini* D = 0,890 *purum* . .	500 ml
	Materiale pentru 100 de colorații Gram	
	Materiale pentru 200 de colorații pentru spori	
	Materiale pentru 200 de colorații pentru cili	
	Bulion glucozat	5 000 g
	Geloză Veillon	2 000 g
	Geloză-sînge	200 g
	Seruri specifice antibotulinice A, B și E	300 de fiole

m) *Diagnosticul de laborator al gangrenelor gazoase*

Cod 13 340	*Oleum parafini* D = 0,890 *purum* . .	1 500 g
	Bulion glucozat	30 000 g
	Geloză Veillon	10 000 g
	Geloză-sînge	4 000 g
	Materiale pentru 100 de colorații Gram	
	Materiale pentru 100 de colorații albastru de metilen	
	Materiale pentru 100 de colorații pentru spori	
	Materiale pentru 100 de antibiograme	
	Seruri specifice antigangrenoase	500 de fiole

n) *Diagnosticul infecției tuberculoase*

Cercetarea bacilului Koch în laptele de vacă

Cod 931	*Acidum hydrochloricum* D = 1,19 pt. a.	100 ml
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* pt. a. . .	100 g
Cod 16 280	*Tripaflavinum purum*	10 g
	Materiale pentru 300 de colorații Ziehl-Neelsen	
	Materiale pentru 100 de colorații Gram	
	Mediul Löwenstein	10 g
	Geloză-sînge	2 000 g
	Tuberculină brută	100 de fiole
	Materiale pentru 100 de antibiograme	

o) *Diagnosticul infecției cu micobacterium leprae*

Materiale pentru 500 de colorații Ziehl-Neelsen

Scanned with OKEN Scanner

p) *Diagnosticul de laborator al infecţiilor cu spirochete*

Borrelia recurentis

Materiale pentru 200 de coloraţii Giemsa
Materiale pentru 100 de coloraţii cu Fucsină bazică
Materiale pentru 100 de examene cu metoda Burri

Treponema pallidum

Cod 2 419 +)	*Alcohol methylicus* pt. a.	500 ml
Cod 19 090	*China Tusche* pentru 100 de coloraţii	
	Materiale pentru 100 de impregnaţii, metoda Fontana	
	Materiale pentru 100 de coloraţii Giemsa	
	Materiale pentru 100 de reacţii Bordeţ-Wassermann	
	Materiale pentru 100 de reacţii Citochol	
	Materiale pentru 100 de reacţii Meinicke	
	Materiale pentru 10 reacţii Kahn	

Leptospira

Cod 5 023	*Calcium carbonicum* p. a.	0,50 g
Cod 9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	0,50 g
Cod 11 741	*Natrium bicarbonicum* p. a.	0,50 g
Cod 11 760	*Natrium biphosphoricum Sörensen* p. a.	0,50 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	1,8 g
Cod 13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum* . .	1 g
Cod 19 090	*China Tusche*	50 ml
	Materiale pentru 100 de impregnări Fontana	
	Materiale pentru 300 de coloraţii Giemsa	
	Antigen leptospira Biflexa Patoc pentru 100 de R.F.C.	
	Ser hemolitic pentru R.F.C.	20 de fiole

r) *Diagnosticul infecţiilor cu Rickettsia*

Materiale pentru 100 de reacţii Weill-Felix
Materiale pentru 100 de reacţii Kudicke Steuer
Materiale pentru 100 de reacţii R.F.C. Prowazecki

Scanned with OKEN Scanner

4. Determinarea sensibilității germenilor la antibiotice

Antibiograma

Metoda difuzimetrică

Cod 3 210 A	*Amylum solubile* p. a.	500 g
	Geloză Cabert	4 000 g
	Geloză ficat	4 000 g
	Penicilină 200 000 u.	1 flacon
	Streptomicină 1 g	1 flacon
	Chloramphenicol	1 000 mg
	Aureociclină	1 000 mg
	Eritromicină	200 mg
	Nitrofuran	1 g
	Sulfathiazol	1 g

Determinarea sensibilității bacilului Koch la antibiotice

Mediul Lőwenstein	12 000 g
Streptomicină	2 g
P.A.S.	2 g
Hidrazida I.N.	2 g
Cicloserină	2 g
Trecator	2 g
Viomicină	2 g
R. 106	2 g

INDEX

Cod :	
38	*Acetonum* pt. a. N.I.R.
138	*Acidum aceticum glaciale purum*
237	*Acidum para aminobenzoicum* p. a.
242 +)	*Acidum amino benzolsulfonicum para* pt. a. STAS 4 466-54 *(acidum sulfanilic.)*
495	*Acidum benzoicum* p. a.
516	*Acidum boricum siccum* p. a.
581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a.
693	*Acidum citricum Sörensen cryst.* p. a.
843	*Acidum gallotanicum anhydr. purum*
859	*Acidum glutaminicum L. purum*
931	*Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.
1 023	*Acidum lacticum* D=1,21 *purum*
1 061	*Acidum mercapto aceticum* 80% p. a. *(thioglycolic)*
1 193	*Acidum nitricum fumans* D=1,52 p. a.
1 249	*Acidum oxalicum* p. a.
1 515 A	*Acidum sulfuricum* D=1,84 *purum*
1 721	*Adoniton* p. a.
1 770	*Aether aethylicus* p. a. N.I.R.
2 287	*Agar-agar fillis*
2 289	*Agar-agar pulvis*
2 302	*Alanin D. purum*
2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. N.I.R.
2 419 +)	*Alcohol methylicus* pt. a. N.I.R.
2 633	*Aluminium chloratum cryst. pss.*
2 798	*Amino dimetil anilinum para* p. a.
2 883	*Ammonia liquida* p. a.
2 964	*Ammonium ferricitricum viride purum*
3 039 +)	*Ammonium phosphoricum monobasic* pt. a. N.I.R. 1151-58
3 210 A	*Amylum solubile* p. a.
3 352	*Arabinosa D.L. purum*
3 431	*Argentum nitricum* p. a.
3 463	*Argininum L Difco*
3 544	*Asparaginum D.L. purum*
3 700	*Bacitracin R. purum*

Scanned with OKEN Scanner

3 732 *Balsamum canadense neutrale purum*
3 975 *Benzonaphtolum beta purum*
4 155 *Bismuthum ammonium citricum* p. a.
5 023 *Calcium carbonicum* p. a.
5 036 +) *Calcium chloratum cryst.* pt. a. STASS 2310-51
5 312 *Cellobiosa purum*
6 107 *Cysteinum hydrochloricum purum*
6 118 *Cystinum D. L. purum*
6 335 *Dextrinum album puriss.*
6 718 *Dimethylamino benzaldehydum para* p. a.
6 856 α- *Dinitro phenolum* (2—4) p. a.
6 858 γ- *Dinitro phenolum* (2—5) p. a.
7 041 *Dulcit* p. a.
7 043 *Dulcit izo* p. a. (Rhamnosa)
7 641 *Ferrum chloratum oxydulatum* p. a.
7 654 +) *Ferrum citricum oxydatum in lamellis* pt. a. N.I.R.
7 750 *Ferrum sulfuricum oxydulatum* p. a.
7 775 *Fleisch extrakt Lablenco purum*
7 776 *Fleisch extrakt Liebig* p. a.
7 807 *Formaldehydum* 40% *purum*
7 833 *Fructose* p. a.
8 005 *Galactose D.* pt. a.
8 038 *Gelatina* p. a.
8 089 *Glucose D* p. a.
8 154 *Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.
8 716 +) *Hydrargyrum bichloratum* pt. a. N.I.R.
8 858 *Hydrogenium peroxydatum* 30% *purum*
9 265 *Inositum* p. a.
9 270 *Inulinum* p. a.
9 372 *Jodum metallicum* p. a.
9 541 +) *Kalium bichromicum* chimic pur Stas 2 260-51
9 593 *Kalium carbonicum anhydricum* p. a.
9 597 *Kalium chloratum* p. a.
9 672 *Kalium hydricum in rotulis* p. a.
9 695 +) *Kalium jodatum* p. a. Stass 2433-51
9 700 *Kalium jodicum* p. a.
9 736 +) *Kalium nitricum* pt. a. Stas 1 943-54
9 783 *Kalium phosphoricum bibasicum Sörensen* p. a.
9 786 *Kalium phosphoricum monobasicum* pt. a.
9 874 *Kalium telluricum* p. a.
10 384 *Lugolum solutio* p. a.
10 401 *Lysinum L. purum*
10 742 +) *Magnesium sulfuricum* pt. a. N.I.R.
10 845 *Mannit purum*
11 560 *α-naphtolum pulvis* p. a.
11 564 *β-naphtolum pulvis* p. a.
11 587 *α-naphtylaminum purum*
11 637 *Natrium aceticum anhydricum* p. a.

Scanned with OKEN Scanner

11 741	*Natrium bicarbonicum* p. a.
11 760	*Natrium biphosphoricum Sörensen* p. a.
11 762	*Natrium biselenosum* p. a.
11 803	*Natrium boracicum ustum* p. a.
11 843	*Natrium carbonicum anhydricum* p. a. STAS 2 192-51
11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur STAS 1 326-51
11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur N.I.R.
11 916	*Natrium desoxycholicum* p. a.
11 975	*Natrium glicerophosphoricum* p. a.
12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.
12 130	*Natrium nitrosum cryst. (-alcali)* p. a.
12 217 A	*Natrium phosphoricum bibasicum* p. a.
12 369	*Natrium sulfurosum siccum.* p. a.
12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.
12 679	*Nitrophenolum meta* p. a.
12 683	*Nitrophenolum para* p. a.
13 327	*Oleum cedri purum*
13 340	*Oleum paraffini* D=0,890 *purum*
13 364	*Ornitinum L.dihidrochloricum*
13 743	*Peptonum siccum ex carne purum*
13 753	*Peptonum Chapoteaux purum*
13 749	*Peptonum bacto siccum* p. a.
13 761	*Peptonum proteose bacto Difco* nr. 2
13 766	*Peptonum Witte pro bacto purum*
14 148	*Plumbum aceticum basicum cryst. purum*
14 389	*Pyridoxal purum*
14 701	*Rafinosa anhydrica* p. a.
15 005	*Sacharosa* p. a.
15 010	*Sacharum lactis* p. a.
15 022	*Salicin purum*
15 118	*Silicagel purum*
15 188	*Sorbitolum D.L. purum*
16 174	*Trehalosa* p. a.
16 280	*Tripaflavinum purum*
16 442	*Ureea purificat*
16 998	*Xylosum D.L.* p. a.
17 280	*Zincum chloratum anhydricum* p. a.
18 632	*Acidum rubin*
18 754	*Anilin blau aqua solubile*
19 003	*Brom cresol purpur*
19 023	*Brom thymol blau*
19 090	*China Tusche*
19 145	*Chrisoidinum*
19 162	*Congo rot*
19 196	*Cresol sulfon phtalein orto*
19 418	*Eosin aqua et spiritus solubile*
19 441	*Eosin gelblich*
19 452	*Eosin methylen blau*
19 532	*Fuchsin diamant*
19 626	*Fuchsin basicum*

Scanned with OKEN Scanner

19 714	*Genţiana violet*
20 002	*Lackmus pur*
20 046	*Malachit grün*
20 096	*Methyl rot aqua solubile*
20 120	*Methylen blau*
20 217	*Neutral rot (Toluilen rot)*
20 490	*Phenol rot*
20 706	*Safraninum T*
20 740	*Solutio Giemsa*
21 038	*Papier lackmus blau*
21 042	*Papier lackmus rot*
21 273	*Papier Indikator* pH 6,6—8 *cum* Farbskala Merck 9 557
21 333	*Papier universal Indikator* Merck 1 serie

Scanned with OKEN Scanner

INDEX

de produse biologice preparate de Institutul „Dr. I. Cantacuzino" — utilizate în examenul de bacteriologie

Antigene gripale de tip pentru reacţia de hemaglutinoinhibare tip A, A_1, A_2 şi B

Antigen Bordet-Rouelens, pentru reacţia Bordet-Wassermann

Antigen brucelos pentru reacţia inelară

Antigen Casoni pentru I.D.R. în hidatidoză

Antigen Huddleson

Antigen Leptospira biflexa-Patoc

Antigen Citochol

Antigen Kahn

Antigen M.K.R. II

Antigen total Rickettsia-Prowazecki

Antigen Trichinella spiralis pentru I.D.R. în trichinoză

Antigen tularemic

Antigen Vi pentru reacţia de aglutinare

Antigen Wright pentru reacţia de aglutinare

Suspensie alcoolată Proteus O X 19

Suspensii alcoolate tifoparatifice pentru reacţia Widal

Suspensii formolate tifoparatifice pentru reacţia Widal

Toxina pentru I.D.R. Schick

Toxina pentru I.D.R. Dick

Tularina pentru I.D.R.

Tuberculină brută 1 : 5 000 ; 1 : 10 000 ; 1 : 100 000

Streptolizină O

Ser normal de bou

Ser normal de cal

Ser aglutinat de tip pentru reacţia de hemaglutinoinhibare

Seruri aglutinante antisalmonella

Scanned with OKEN Scanner

Seruri aglutinante antidisenterice de tip şi de grup
Seruri aglutinante anti-Escherichia coli
Seruri aglutinante antipneumococice
Seruri precipitante de grup pentru streptococi
Ser precipitant antiom
Ser hemolitic antioaie pentru reacţia Bordet-Rouelens
Ser hemolitic antioaie pentru reacţia de fixare a complementului Prowazecki
Ser antidifteric

Scanned with OKEN Scanner

INDICATORUL UNOR FORMULE ȘI INDEXUL ALFABETIC DE REACTIVI CARE SE FOLOSESC ÎN ANALIZELE HEMATOLOGICE

FORMULE

I. EXAMENE MORFOLOGICE

A. RECOLTAREA SÎNGELUI PERIFERIC PENTRU EXAMENE MORFOLOGICE

1. Recoltarea sîngelui capilar

Cod 2 333 +) *Alcohol aethylicus* 90° purificat . . . 40 ml

sau

Cod 1 770 *Aether aethylicus* p. a. . . . . 40 ml

2. Recoltarea sîngelui venos

Cod 2 333 +) *Alcohol aethylicus* 90° purificat . . . 40 ml

sau

Cod 1 770 *Aether aethylicus* p. a. . . . . 60 ml

3. Soluții stabilizatoare

Cod 11 900 +) *Natrium citricum tribasicum* chimic pur . . . . . 2 g (V.S.H)

Cod 3 022 a *Ammonium oxalicum* p. a. . . . . 3 g

Cod 9 753 +) *Kalium oxalicum* p. a. . . . . 2 g

Heparină 5 000 u.i. (hematocrit) . . . 4 fiole

B. EXPLORAREA MORFOFUNCTIONALĂ A ELEMENTELOR FIGURATE SANGUINE

ERITROCITUL

1. Examenul postvital al eritrocitului

Cod 13 659	*Paraffinum albiss. 56° purum* . . .	10 g

2. Numărătoarea eritrocitelor

a) *Soluția Hayem*

Cod 8 716 +)	*Hydrargyrum bichloratum* pt. a. . . .	0,25 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	0,50 g
Cod 12 355	*Natrium sulfuricum anhydricum* p. a. .	2,50 g

b) *Soluția Marcano*

Cod 7 807	*Formaldehydum 40% purum*	1 ml
Cod 12 355	*Natrium sulfuricum anhydricum* p. a. .	5 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	0,1 g

c) *Soluția Withby*

Cod 7 807	*Formaldehydum 40% purum*	1 ml
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	0,6 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	1 g

3. Rezistența globulară

Cod 11 860 +)	*Natrium chlorat* chimic pur	17,50 g

4. Dozarea hemoglobinei

a) *Metoda Sahli*

Cod 931	*Acidum hydrochloricum* D = 1,19 p. a.	1,5 ml

b) *Metoda Philipps—van Slyke* (modificată)

Cod 6 032	*Cuprum sulfuricum anhydricum* p. a. .	16 g

c) *Dozarea fotometrică a hemoglobinei (Heilmeyer)*

Cod 2 883	*Ammonia liquida* p. a.	8 ml
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	2 g

d) *Determinarea hemoglobinei alcalino rezistente*

Cod 931	*Acidum hydrochloricum* D = 1,19 p. a.	170 ml
Cod 3 105 +)	*Ammonium sulfuricum cryst.* purificat	20 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	2 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	2 g
Cod 16 138	*Toluolum* p. a.	40 ml

Scanned with OKEN Scanner

5. Determinarea volumului eritrocitar

	Heparină 5 000 u.	4 fiole

6. Viteza de sedimentare a eritrocitelor (Westergreen)

Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	1,9 g

7. Examenul morfologic al eritrocitelor

	Solutio May—Grünwald	200 ml
	sau preparată din :	
Cod 2 419 +)	*Alcohol methylicus* pt. a.	200 ml
Cod 8 154	*Glicerinum neutrale anhydricum* p. a.	100 ml
Cod 19 452	*Eosin methylen blau*	2 g
Cod 20 740	*Solutio Giemsa*	15 ml
	sau preparată din :	
Cod 2 419 +)	*Alcohol methylicus* pt. a.	250 ml
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum*	250 ml
Cod 18 852	*Azur II*	0,8 g
Cod 18 854	*Azur II Eosin*	3 g
	sau	
	May Grünwald pulbere	0,1 g
	Giemsa pulbere	0,2 g
Cod 2 419 +)	*Alcohol methylicus* pt. a.	100 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml

8. Punerea în evidenţă a reticulocitelor

Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutum* pt. a.	10 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 13 659	*Paraffinum albis 56° purum*	10 g
Cod 18 966	*Brillant cresyl blau*	0,03 g
Cod 20 740	*Solutio Giemsa*	15 ml

LEUCOCITUL

1. Numărătoarea leucocitelor

Soluţie Hayem

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum*	0,50 ml
Cod 20 120	*Methylen blau*	0,025 g

Soluţie Türk

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum*	1,50 ml
Cod 19 714	*Genţiana violet*	0,01 g

2. Numărătoarea diferenţială a eosinofilelor

Soluţia 1.

Cod 38	*Acetonum* pt. a.	5 ml
Cod 19 562	*Eosin W.G.*	0,1 g

Scanned with OKEN Scanner

Soluţia a 2-a.

Cod 14 297	*Propan 1-2 diolum (Propylenglycolum) purum*	50 ml
Cod 20 120	*Methylen blau*	0,25 g
Cod 20 510	*Phloxynum* p. a.	0,25 g

Soluţia a 3-a (Giovani D'Angelo).

Cod 19 003	*Brom cresol purpur*	0,04 g
Cod 19 562	*Eosin W.G.*	0,20 g

3. Examenul morfologic leucocitar

	Solutio May—Grünwald	200 ml
	sau preparată din :	
Cod 2 419 +)	*Alcohol methylicus* pt. a.	200 ml
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	100 ml
Cod 19 452	Eosin methylen blau	2 g
Cod 20 740	*Solutio Giemsa*	15 ml
	sau preparată din :	
Cod 2 419 +)	*Alcohol methylicus* pt. a.	250 ml
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	250 ml
Cod 18 852	*Azur II*	0,8 g
Cod 18 854	*Azur II Eosin*	3 g
	sau	
	May Grünwald pulbere	0,1 g
	Giemsa pulbere	0,2 g
Cod 2 419 +)	*Alcohol methylicus* pt. a.	100 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml

4. Examene histochimice

Punerea în evidenţă a fermenţilor

a) *Reacţia oxidazelor (Schultze)*

Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	100 ml
Cod 7 807	*Formaldehydum 40% purum*	100 ml
Cod 11 560	*α-naphtolum pulvis* p. a.	0,50 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	2 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	0,002 g
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
	Para dimethyl, para phenylen diamin .	1,50 g

b) *Reacţia peroxidazelor (Sato)*

Cod 3 894	*Benzidinum purum*	0,4 g
Cod 6 032	*Cuprum sulfuricum anhydricum* p. a. .	1 g
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 706	*Safraninum T*	2 g
	Apă oxigenată 3%	IV picături

Scanned with OKEN Scanner

Punerea în evidenţă a grăsimilor

a) *Metoda cu Sudan III*

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 756	*Sudan III*	0,025 g
	Alcohol aethylicus 70°	5 ml

b) *Metoda cu acid osmic*

Cod 1 245	*Acidum osmicum* soluţie 2% p. a. . .	2 ml
Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	100 ml
Cod 9 769 +)	*Kalium permanganicum* p.a.	2 g

Punerea în evidenţă a glicogenului

Metoda acidului periodic

Cod 931	*Acidum hydrochloricum* D = 1,19 p. a.	1 ml
Cod 1 298	*Acidum perjodicum* p. a.	0,40 g
Cod 2 333 +)	*Alcohol aethylicus* 90° purificat . . .	30 ml
Cod 9 700	*Kalium jodicum* p. a.	1 g
Cod 11 641	*Natrium aceticum* p. a.	0,02 g
Cod 11 784	*Natrium bisulfurosum meta* pt. a. . .	0,25 g
Cod 15 060	*Schiff reagent* p. a.	100 ml

Punerea în evidenţă a fosfatazei alcaline

a) *Metoda cu substrat-tampon*

Cod 3 099	*Ammonium sulfuratum* sol. 40% p. a.	100 ml
Cod 5 105 +)	*Calcium nitricum* pt. a.	2,50 g
Cod 5 784 +)	*Cobaltum nitricum oxydulatum* p. a. .	2 g
Cod 7 807	*Formaldehydum* 40% *purum*	50 ml
Cod 11 920	5-5 *Natrium diaethylbarbituricum* p. a.	0,3 g
Cod 11 975	*Natrium glicerophosphoricum* p. a. . .	0,20 g
Cod 12 355	*Natrium sulfuricum anhydricum* p. a. .	0,001 g
Cod 18 034	*Acidum hydrochloricum* N/10	0,6 ml

TROMBOCITUL

1. Numărarea trombocitelor

a) *Metoda indirectă (Fonio)*

Cod 1 770	*Aether aethylicus* p. a.	40 ml
Cod 10 742 +)	*Magnesium sulfuricum* pt. a.	1 g
Cod 20 740	*Solutio Giemsa*	15 ml
	Solutio May—Grünwald	200 ml

b) *Metoda directă (Ress—Ecker)*

Cod 7 807	*Formaldehydum* 40% *purum*	0,2 ml
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	3,8 g
Cod 18 966	*Brillant cresyl blau*	0,10 g

Scanned with OKEN Scanner

c) *Metoda directă (Cazal)*

Cod 8 716 +)	*Hydrargyrum bichloratum* pt. a. . .	0,05 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	0,25 g
Cod 16 441	*Urea puriss.*	5 g
Cod 18 966	*Brillant cresyl blau*	0,05 g

2. Examenul morfologic şi aglutinabilitatea trombocitelor

Cod 1 770	*Aether aethylicus* p. a.	40 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Sol. Giemsa*	15 ml
	Solutio May—Grünwald	200 ml

C. ORGANE HEMATOPOETICE

MĂDUVA OSOASĂ

1. Puncţia medulară

	Tinctura iodi	200 ml
	Novocaină soluţie 1%	300 ml

2. Fixarea şi colorarea frotiului

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	10 g
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Sol. Giemsa*	15 ml
	Sol. May—Grünwald	200 ml

3. Numărătoarea elementelor nucleate medulare

Soluţie Hayem

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	0,50 ml
Cod 20 120	*Methylen blau*	0,025 g

Soluţie Türk

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . . .	1,50 ml
Cod 19 714	*Gentiana violet*	0,01 g

4. Examenul morfologic al elementelor medulare

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Sol. Giemsa*	15 ml
	Sol. May—Grünwald	200 ml

5. Mielograma

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Sol. Giemsa*	15 ml
	Sol. May—Grünwald	200 ml

Scanned with OKEN Scanner

6. Megacariograma

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Sol. Giemsa*	15 ml

SPLINA

Puncţie splenică. Splenograma

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Sol. Giemsa*	15 ml
	Tinctura iodi	200 ml
	Sol. May—Grünwald	200 ml

GANGLIONUL LIMFATIC

Puncţie ganglionară. Adenograma

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Sol. Giemsa*	15 ml
	Tinctura iodi	200 ml
	Sol. May—Grünwald	200 ml

FICATUL

Puncţie hepatică. Hepatograma

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Sol. Giemsa*	15 ml
	Novocaină soluţie 1%	300 ml
	Tinctura iodi	200 ml
	Sol. May—Grünwald	200 ml

II. EXPLORAREA COAGULĂRII SÎNGELUI

A. NOŢIUNI GENERALE DE TEHNICĂ

(SUBSTANŢE STABILIZATOARE ŞI ANTICOAGULANTE)

Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	1,34 g
	sau	
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	3,8 g
	sau	

Amestecul Wintrobe

Cod 9 753 +)	*Kalium oxalicum* p. a.	0,80 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	1,2 g
	sau	
Cod 16 108	*Titriplex* III p. a.	0,50 g

B. EXPLORAREA COAGULABILITĂŢII TOTALE A SÎNGELUI

1. Timpul de coagulare a sîngelui integral

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur	0,85 g

Scanned with OKEN Scanner

2. Retracţia cheagului

Metoda Hirschboeck

Cod 13 349	*Oleum ricini* p. a.	50 ml

3. Timpul de coagulare a plasmei recalcifiate (Howel)

Cod 5 040 +)	*Calcium chloratum anhydricum* purificat	0,25 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	0,70 g

4. Testul de toleranţă la heparină

Cod 5 040 +)	*Calcium chloratum anhydricum* purificat	0,25 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	0,70 g
	Heparină 5 000 u.i.	2 fiole

C. EXPLORAREA PRIMEI FAZE A COAGULĂRII

1. Consumul de protrombină

Cod 3 840	*Barium sulfuricum* p. a.	20 g
Cod 5 040 +)	*Calcium chloratum anhydricum* purificat	90 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	1 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	10 g
Cod 12 228 +)	*Natrium phosphoricum tribasicum* p. a.	200 g
Cod 18 028	*Acidum hydrochloricum* N/1	25 ml
	Tromboplastină liofilizată 1 ml . . .	10 fiole

2. Generarea tromboplastinei (Biggs şi Douglass)

Cod 3 840	*Barium sulfuricum* p. a.	2 g
Cod 5 040 +)	*Calcium chloratum anhydricum* purificat	0,25 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	6 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	4 g

3. Corectarea timpului de recalcifiere

Cod 3 840	*Barium sulfuricum* p. a.	20 g
Cod 5 040 +)	*Calcium chloratum anhydricum* purificat	1 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	6 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	2 g

Scanned with OKEN Scanner

4. Dozarea factorilor antihemolitici A și B (Soulier, Larrieu)

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	8,50 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	2 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	2 g

D. EXPLORAREA FAZEI A DOUA A COAGULĂRII

1. Timpul de protrombină (Quick)

Cod 5 040 +)	*Calcium chloratum anhydricum* purificat	0,3 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur .	0,85 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	0,70 g
	Tromboplastină liofilizată 1 ml . . .	10 fiole

2. Determinarea specifică a protrombinei într-un timp (Owren)

Cod 5 040 +)	*Calcium chloratum anhydricum* purificat	0,30 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	0,85 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	0,70 g
	Tromboplastină liofilizată 1 ml . . .	10 fiole

3. Determinarea complexului protrombină-proconvertină (Owren)

Cod 5 040 +)	*Calcium chloratum anhydricum* purificat	0,30 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	0,85 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	0,70 g
	Tromboplastină liofilizată 1 ml . . .	10 fiole

4. Determinarea factorului V (proaccelerina)

Cod 5 040 +)	*Calcium chloratum anhydricum* purificat	0,30 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	0,85 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	0,70 g
	Tromboplastină liofilizată 1 ml . . .	10 fiole

5. Determinarea factorului al VII-lea (proconvertina)

Cod 5 040 +)	*Calcium chloratum anhydricum* purificat	0,30 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	0,85 g
Cod 12 148 +)	*Natrium oxalicum cryst.* p. a.	0,70 g
	Tromboplastină liofilizată 1 ml . . .	10 fiole

Scanned with OKEN Scanner

E. EXPLORAREA FAZEI A TREIA A COAGULĂRII

1. Determinarea cantitativă a fibrinogenului (Leroux)

Cod 1 773 +)	*Aether aethylicus absolutus* p. a. . . .	500 ml
Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	500 ml
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	10 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	5 g
Cod 11 920	5-5 *Natrium diaethylbarbituricum* p. a.	25 g
Cod 18 034	*Acidum hydrochloricum* N/10	100 ml
	Trombină liofilizată	20 flacoane

2. Explorarea fibrinolizei

(Macfarlane-Biggs)

Cod 5 040 +)	*Calcium chloratum anhydricum* purificat	3,5 g
Cod 11 641	*Natrium aceticum* pt. a.	5 g
Cod 11 860	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	8,5 g
Cod 11 920	5-5 *Natrium diaethylbarbituricum* p. a.	7,5 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	5 g
Cod 18 034	*Acidum hydrochloricum* N/10	5 ml
	Trombină liofilizată	20 flacoane

III. IMUNOLOGIE SANGUINĂ

A. AGLUTINOGENE ERITROCITARE

1. Determinarea antigenilor O.A.B.

Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	0,50 g
	Ser test O (I)	10 ml
	Ser test A (II)	10 ml
	Ser test B (III)	10 ml

2. Determinarea factorului Rh_0 (D) pe lamă cu ser test și eritrocite papainate (van Loghem-Fotino)

Cod 6 107	*Cysteinum hydrochloricum purum* . .	0,50 g
Cod 9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	0,06 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	1,5 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	0,40 g
Cod 12 215 +)	*Natrium phosphoricum bibasicum* chimic pur	0,08 g
Cod 13 638	*Papainum purum*	1 g
	Ser anti-Rh_0 a 1 ml	10 fiole

3. Determinarea factorului Rh_0 (D) pe lamă cu ser test și eritrocite nepapainate

	Ser anti-Rh_0 a 1 ml	10 fiole

Scanned with OKEN Scanner

B. AGLUTININE SERICE (ANTICORPI)

1. Determinarea aglutininelor anti-A (α) și Anti-B (β) (Simonin)

Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	0,50 g

2. Determinarea anticorpilor anti-Rh_0 (D) pe lamă cu eritrocite papainate

Cod 6 107	*Cysteinum hydrochloricum purum* . .	0,50 g
Cod 9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	0,06 g
Cod 12 215 +)	*Natrium phosphoricum bibasicum* chimic pur	0,08 g
Cod 13 638	*Papainum purum*	1 g

3. Titrarea anticorpilor anti-Rh_0 (D) din serul sanguin

În mediu salin :

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	4 g

4. Determinarea autoaglutinării prin anticorpi incompleți în mediu albuminos

Cod 2 319	*Albumen bovis cryst. purum*	0,40 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	5 g
Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	0,50 g

5. Titrarea anticorpilor incompleți în mediu albuminos

Cod 2 319	*Albumen bovis cryst. purum*	0,40 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	5 g

6. Testul antiglobulinic (Coombs-Mourant-Race)

a) *Testul antiglobulinic direct*

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	8 g
	Ser antiglobulinic	50 ml

b) *Testul antiglobulinic indirect*

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	8 g
	Ser antiglobulinic	50 ml

7. Determinarea calitativă a anticorpilor anti-Rh_0 (D) din ser (lapte)

Cod 6 107	*Cysteinum hydrochloricum purum* . .	0,50 g
Cod 9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	0,06 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	0,85 g
Cod 12 215 +)	*Natrium phosphoricum bibasicum* chimic pur	0,08 g
Cod 13 638	*Papainum purum*	1 g

Scanned with OKEN Scanner

8. Titrarea anticorpilor anti-Rh_0 (D) conţinuţi în ser (lapte)

Cod 6 107	*Cysteinum hydrochloricum purum* . .	0,50 g
Cod 9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	0,06 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	0,86 g
Cod 12 215 +)	*Natrium phosphoricum bibasicum* chimic pur	0,08 g
Cod 13 638	*Papainum purum*	1 g

9. Determinarea anticorpilor antileucocitari (Dausset)

Cod 6 333	*Dextranum purum*	500 ml
	sau	
Cod 14 277	*Polyvynyl pyrolidon purum*	500 ml
	Acid acetic soluţie 1%	10 ml

C COMPATIBILITATEA SEROLOGICĂ ÎN TRANSFUZII

1. Proba de compatibilitate directă majoră (Jeanbrau)

Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	4 g

2. Proba de compatibilitate inversă minoră

Cod 11 900 +)	*Natrium citricum tribasicum* chimic pur	4 g

IV. TEHNICA SILICONĂRII MATERIALULUI DE LABORATOR

1. Siliconarea acelor de puncţie venoasă şi a sticlăriei

Pentru o suprafaţă de siliconare de 100 cm^2

Cod 5 563 +)	*Cloroformium* pt. a.	10 ml
Cod 16 138	*Toluolum* p. a.	10 ml
	Silicon emulsie	5 ml
	Silicon brut substanţă	0,1 g

Scanned with OKEN Scanner

INDEX

Cod :

38 *Acetonum* pt. a. N.I.R.
138 *Acidum aceticum glaciale purum*
931 *Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.
1 245 *Acidum osmicum* soluţie 2% p. a.
1 298 *Acidum perjodicum* p. a.
1 770 *Aether aethylicus* p. a. N.I.R.
1 773 +) *Aether aethylicus absolutus* p. a. N.I.R.
2 319 *Alumen bovis cryst. purum*
2 333 +) *Alcohol aethylicus* 90° purificat N.I.R.
2 336 +) *Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. N.I.R.
2 419 +) *Alcohol methylicus* pt. a. N.I.R.
2 883 *Ammonia liquida* p. a.
3 022 a *Ammonium oxalicum* p. a.
3 099 *Ammonium sulfuratum* sol. 40% p. a.
3 105 +) *Ammonium sulfuricum cryst.* purificat N.I.R.
3 840 *Barium sulfuricum* p. a.
3 894 *Benzidinum purum*
5 040 +) *Calcium chloratum anhydricum* purificat N.I.R.
5 105 +) *Calcium nitricum* pt. a. N.I.R.
5 563 +) *Cloroformium* pt. a. N.I.R.
5 784 +) *Cobaltum nitricum oxydulatum* p. a. N.I.R.
6 032 *Cuprum sulfuricum anhydricum* p. a.
6 107 *Cysteinum hydrochloricum purum*
6 333 *Dextranum purum*
7 807 *Formaldehydum* 40% *purum*
8 154 *Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.
8 716 +) *Hydrargyrum bichloratum* pt. a. N.I.R.
9 700 *Kalium jodicum* p. a.
9 710 *Kalium meta bisulfurosum pulvis* p. a.
9 753 +) *Kalium oxalicum* p. a. N.I.R.
9 769 +) *Kalium permanganicum* p. a. N.I.R.
9 783 *Kalium phosphoricum bibasicum Sörensen* p. a.
9 786 *Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.
10 742 +) *Magnesium sulfuricum* pt. a. N.I.R.
11 560 *Naphtolum alfa pulvis* p. a.
11 641 *Natrium aceticum* p. a.

Scanned with OKEN Scanner

Cod :

11 784 *Natrium bisulfurosum meta* p. a.
11 860 +) *Natrium chloratum* chimic pur STAS 1 326/51
11 900 +) *Natrium citricum tribasicum* chimic pur N.I.R.
11 920 5-5 *Natrium diaethylbarbituricum* p. a.
11 975 *Natrium glicerophosphoricum* p. a.
12 009 *Natrium hydricum in rotulis* p. a.
12 148 +) *Natrium oxalicum cryst.* p. a. N.I.R.
12 215 *Natrium phosphoricum bibasicum* (secundare) chimic pur STAS 5 540-57
12 228 +) *Natrium phosphoricum tribasicum* p. a. N.I.R.
12 355 *Natrium sulfuricum anhydricum* p. a.
12 415 *Natrium thiosulfuricum* p. a.
13 327 *Oleum cedri purum*
13 349 *Oleum ricini* p. a.
13 638 *Papainum purum*
13 659 *Paraffinum albiss.* 56° *purum*
14 277 *Polyvynyl pyrolidon purum*
14 297 *Propan 1—2 diolum (Propylenglycolum) purum*
15 060 *Schiff reagent* p. a.
16 108 *Titriplex III* p. a.
16 138 *Toluolum* p. a.
16 441 *Urea puriss.*
18 028 *Acidum hydrochloricum* N/1
18 034 *Acidum hydrochloricum* N/10
18 852 *Azur II*
18 854 *Azur II — Eosin*
18 966 *Brillant cresyl blau*
19 003 *Brom cresol purpur*
19 452 *Eosin methylen blau*
19 562 *Eosin W.G.*
19 626 *Fuchsin basicum*
19 714 *Genţiana violet*
20 120 *Methylen blau*
20 510 *Phloxynum* p. a.
20 706 *Safraninum T.*
20 740 *Solutio Giemsa*
20 756 *Sudan III*

INDEX

de produse biologice preparate de Centrul de Hematologie Bucureşti, care se utilizează în examene de hematologie.

Ser test O.A.B.
Ser test anti-Rh
Tromboplastină liofilizată
Trombină liofilizată

Scanned with OKEN Scanner

INDICATORUL UNOR FORMULE ȘI INDEXUL ALFABETIC DE REACTIVI CARE SE FOLOSESC ÎN ANALIZELE PARAZITOLOGICE ȘI MICOLOGICE

FORMULE

I. PARAZIȚI MONOCELULARI

1. Entamoeba coli, Entamoeba dysenteriae

a) *Căutarea formelor vegetative*

Examenul pe frotiu colorat

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum* chimic pur . . .	0,05 g
Cod 19 418	*Eosin aqua et spiritus solubile* . . .	0,10 g

b) *Cercetarea formelor chistice*

Coloraţia cu soluţie concentrată de iod (Lugol forte)

Cod 9 373	*Jodum metallicum purum*	0,50 g
Cod 9 695 b	*Kalium jodatum* p. a.	1 g

c) *Examenul preparatelor fixate şi colorate*

Metoda cu hematoxilină ferică după Heidenheim

Cod 139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a.	15 ml
Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	200 g
Cod 2 333 +)	*Alcohol aethylicus* 90° purificat . . .	1 500 ml
Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 95° pt. a.	150 ml
Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	1 500 ml
Cod 3 733	*Balsamum canadense neutrale* p. a. . .	25 ml
Cod 7 620 +)	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* pt. a.	100 g
Cod 8 715 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst. pur* .	15 g
Cod 16 974	*Xylolum (-thyophen) purum*	1 300 ml
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	15 g

Scanned with OKEN Scanner

d) *Examenul coprologic de îmbogăţire (Metoda Telemann)*

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine arsen* D = 1,19 pt. a.	140 ml
Cod	1 774	*Aether aethylicus anhydricum* p. a. . .	200 ml

2. Trichomonas, Giardia, Leishmania

Trichomonas vaginalis

a) *Coloraţia cu verde de methyl pironină*

Cod	581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	6 g
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	100 ml
Cod	8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	60 ml
Cod	18 616	*Acidum grün*	0,45 g
Cod	20 082	*Methyl grün pyronin Pappenheim* . .	0,75 g

b) *Coloraţia după metoda Giemsa*

Cod	20 740	*Solutio Giemsa*	15 ml

Giardia (Lamblia)

Examen în lichidul duodenal

Examenul direct

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.* D = 1,19 p. a.	140 ml
Cod	1 774	*Aether aethylicus anhydricum* p. a. . .	200 ml

Examen pe frotiu colorat

Coloraţia May—Grünwald—Giemsa

Cod	13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod	20 740	*Solutio Giemsa*	15 ml
		Solutio May—Grünwald	200 ml

Examen coprologic

Coloraţia cu soluţie Lugol

Cod	9 373	*Jodum metallicum purum*	0,10 g
Cod	9 695 b	*Kalium jodatum* p. a.	0,20 g
		sau	
Cod	10 384	*Lugolum solutio* p. a.	30 ml

Leishmania

Examen bioptic

Coloraţia May—Grünwald—Giemsa

Cod	13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod	20 740	*Solutio Giemsa*	15 ml
		Solutio May—Grünwald	200 ml

Scanned with OKEN Scanner

Coloraţia după metoda Giemsa

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Solutio Giemsa*	15 ml

3. Hematozoarul palustru

Examenul sîngelui în frotiu subţire

Coloraţia May—Grünwald—Giemsa

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Solutio Giemsa*	15 ml
	Solutio May—Grünwald	200 ml

Examenul sîngelui în picătură groasă

Coloraţie după metoda Giemsa

Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 20 740	*Solutio Giemsa*	15 ml

II. PARAZIŢI AI TRACTULUI DIGESTIV

1. Trematode — Distomum hepaticum (Fasciola hepatica)

Examen direct

Examenul coprologic de îmbogăţire (Metoda Telemann)

Cod 926 A	*Acidum hydrochloricum sine arsen* D = 1,19 pt. a.	140 ml
Cod 1 774	*Aether aethylicus anhydricum* p. a. . .	200 ml

2. Cestode

Taenia saginata

Examen direct

Examenul coprologic de îmbogăţire (Metoda Telemann)

Cod 926 A	*Acidum hydrochloricum sine arsen* D = 1,19 pt. a.	140 ml
Cod 1 774	*Aether aethylicus anhydricum* p. a. . .	200 ml

Taenia solium

Examen direct

Examenul coprologic de îmbogăţire (Metoda Telemann)

Cod 926 A	*Acidum hydrochloricum sine arsen* D = 1,19 p. a.	140 ml
Cod 1 774	*Aether aethylicus anhydricum* p. a. . .	200 ml

Scanned with OKEN Scanner

Taenia echinococcus

Examen direct

Examenul coprologic de îmbogăţire (Metoda Telemann)

Cod 926 A *Acidum hydrochloricum sine arsen* D = 1,19 p. a. . . . . 140 ml
Cod 1 774 *Aether aethylicus anhydricum* p. a. . . . 200 ml

Botriocephalus latus

Examen direct

Examenul coprologic de îmbogăţire (Metoda Telemann)

Cod 926 A *Acidum hydrochloricum sine arsen* D = 1,19 p. a. . . . . 140 ml
Cod 1 774 *Aether aethylicus anhydricum* p. a. . . . 200 ml

2. Nematode

Ascaris lumbricoides

Examen direct

Examenul coprologic de îmbogăţire (Metoda Telemann)

Cod 926 A *Acidum hydrochloricum sine arsen* D = 1,19 p. a. . . . . 140 ml
Cod 1 774 *Aether aethylicus anhydricum* p. a. . . . 200 ml

Oxiurus vermicularis

Examen direct

Examenul coprologic de îmbogăţire (Metoda Telemann)

Cod 926 A *Acidum hydrochloricum sine arsen* D = 1,19 p. a. . . . . 140 ml
Cod 1 774 *Aether aethylicus anhydricum* p. a. . . . 200 ml

Trichocephalus

Examen direct

Examenul coprologic de îmbogăţire (Metoda Telemann)

Cod 926 A *Acidum hydrochloricum sine arsen* D = 1,19 p. a. . . . . 140 ml
Cod 1 774 *Aether aethylicus anhydricum* p. a. . . . 200 ml

Scanned with OKEN Scanner

Trichinella spiralis

a) *Examen direct*

Examenul coprologic de îmbogăţire (Metoda Telemann)

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine arsen* D = 1,19 p. a.	140 ml
Cod	1 774	*Aether aethylicus anhydricum* p. a. . .	200 ml

b) *Identificarea larvelor*

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	300 ml

Ankylostoma duodenale

Examen direct

Examenul coprologic de îmbogăţire (Metoda Telemann)

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine arsen* D = 1,19 p. a.	140 ml
Cod	1 774	*Aether aethylicus anhydricum* p. a. . .	200 ml

III. PARAZIŢI AI PĂRULUI ŞI PIELII CAPULUI

1. Ciuperci dermofite

Trichophyton

Mediu de cultură

Cod	581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	6 g
Cod	1 022	*Acidum lacticum* D = 1,21 p. a. . . .	6 ml
Cod	2 286	*Agar-pulvis bacto*	18 g
Cod	5 505	*Chloralum hydricum* p. a.	6 g
Cod	8 099	*Glucosum pro injectione*	40 g
Cod	9 670	*Kalium hydricum in rotulis purum* . .	6 g
Cod	13 747	*Peptonum bacto siccum purum* . . .	10 g

Microsporum

Mediu de cultură

Cod	581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	6 g
Cod	1 022	*Acidum lacticum* D = 1,21 p. a. . . .	6 ml
Cod	2 286	*Agar pulvis bacto*	18 g
Cod	5 505	*Chloralum hydricum* p. a.	6 g
Cod	8 099	*Glucosum pro injectione*	40 g
Cod	9 670	*Kalium hydricum in rotulis purum* . .	6 g
Cod	13 747	*Peptonum bacto siccum purum* . . .	10 g

Scanned with OKEN Scanner

Achorion

Mediu de cultură

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	6 g
Cod 1 022	*Acidum lacticum* D = 1,21 p. a. . . .	6 ml
Cod 2 286	*Agar-pulvis bacto*	18 g
Cod 5 505	*Chloralum hydricum* p. a.	6 g
Cod 8 099	*Glucosum pro injectione*	40 g
Cod 9 670	*Kalium hydricum in rotulis purum* . .	6 g
Cod 13 747	*Peptonum bacto siccum purum* . . .	10 g

Actinomyces

Mediu de cultură

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	6 g
Cod 1 022	*Acidum lacticum* D = 1,21 p. a. . . .	6 ml
Cod 2 286	*Agar-pulvis bacto*	18 g
Cod 5 505	*Chloralum hydricum* p. a.	6 g
Cod 8 099	*Glucosum pro injectione*	40 g
Cod 9 670	*Kalium hydricum in rotulis purum* . .	6 g
Cod 13 747	*Peptonum bacto siccum purum* . . .	10 g

Examenul preparatelor colorate

Metoda Ziehl—Neelsen

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	35 g
Cod 1 193	*Acidum nitricum fumans* D = 1,52 pt. a.	150 ml
Cod 13 327	*Oleum cedri purum*	5 ml
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	5 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	5 g

Examen pe frotiu de puroi necolorat

Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	20 ml

Candida albicans

Medii de cultură

Mediul Sabouraud

Cod 2 286	*Agar pulvis bacto*	18 g
Cod 8 099	*Glucosum pro injectione*	40 g
Cod 13 747	*Peptonum bacto siccum purum* . . .	10 g

Mediul P.C. și P.C.B.

Cod 2 286	*Agar pulvis bacto*	20 g

Scanned with OKEN Scanner

INDEX

Cod :

139 *Acidum aceticum glaciale* pt. a. STAS 1 409-50
581 *Acidum carbolicum cryst.* p. a.
926 A *Acidum hydrochloricum sine As.* D=1,19 p. a.
1 022 *Acidum lacticum* D = 1,21 p. a.
1 193 *Acidum nitricum fumans* D = 1,52 p. a.
1 774 *Aether aethylicus anh.* p. a.
2 286 *Agar pulvis bacto*
2 333 +) *Alcohol aethylicus* 90° purificat N.I.R.
2 334 +) *Alcohol aethylicus* 90° pt. a. N.I.R.
2 336 +) *Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. N.I.R.
2 419 +) *Alcohol methylicus* pt. a. N.I.R.
3 733 *Balsamum canadense neutrale* p. a.
5 505 *Chloralum hydricum* p. a.
7 620 +) *Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* pt. a. STAS 1 492-54
8 099 *Glucosum pro injectione*
8 154 *Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.
8 715 A *Hydrargyrum bichloratum cryst. pur.*
9 373 *Jodum metallicum purum*
9 670 *Kalium hydricum in rotulis purum*
9 695 b *Kalium jodatum* p. a.
10 384 *Lugolum solutio* p. a.
11 860 +) *Natrium chloratum* chimic pur STAS 1 326-51
13 327 *Oleum cedri purum*
13 747 *Peptonum bacto siccum purum*
16 974 *Xylolum* (-thyophen) *purum*
18 616 *Acidum grün*
19 418 *Eosin aqua et spiritus solubile*
19 452 *Eosin methylen blau*
19 626 *Fuchsin basicum*
19 745 *Hematoxylinum purum*
20 082 *Methyl grün pyronin Pappenheim*
20 120 *Methylen blau*
20 740 *Solutio Giemsa*

Scanned with OKEN Scanner

INDICATORUL UNOR FORMULE ȘI INDEXUL ALFABETIC DE REACTIVI CARE SE FOLOSESC ÎN ANALIZELE DE HISTOPATOLOGIE

FORMULE

FIXAREA PIESELOR

A. FIXATORI SIMPLI

		Formaldehidum 10% (schimbat de 2—3 ori)	90 ml
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° p. a.	30 ml
		sau	
Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	30 ml
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	10 ml
Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	20 ml
Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	2,5 g
		sau	
Cod	1 609	*Acidum trichloraceticum* p. a.	5 g
Cod	1 245	*Acidum osmicum solutio* 2%	II picături

B. AMESTECURI FIXATOARE

a) *Fixatori universali*

1. Picroformolul acetic Bouin

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	2 ml
Cod	1 397	*Acidum picricum* p. a.	1,20 g
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	10 ml

2. Lichidul Bouin—Holland

Cod	1 397	*Acidum picricum* p. a.	1,60 g
Cod	1 609	*Acidum tricloraceticum cryst.* p. a. . .	0,8 g
Cod	5 921 +)	*Cuprum aceticum oxydatum* pt. a. . .	1 g
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	1 ml

Scanned with OKEN Scanner

3. Lichidul fixator Susa

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	2 ml
Cod	1 609	*Acidum tricloraceticum cryst.* p. a. . .	1 g
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	10 ml
Cod	8 716 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst.* p. a. .	2,25 g
Cod	10 384	*Lugolum solutio* p. a.	10 ml
Cod	11 860 A	*Natrium chloratum cryst.* p. a. . . .	0,25 g
Cod	12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	0,50 g

4. Lichidul Dubosque—Brasil

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	5 ml
Cod	1 397	*Acidum picricum* p. a.	0,33 g
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	20 ml
		Alcohol 80°	50 ml

5. Lichidul Zenker

Cod	136	*Acidum aceticum anhydricum* p. a. . .	2 ml
Cod	8 715 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst.* pur	2 g
Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . . .	1 g
Cod	10 384	*Lugolum solutio* p. a.	10 ml
Cod	11 782	*Natrium bisulfurosum cryst.* p. a. . .	0,50 g
Cod	12 367	*Natrium sulfurosum cryst.* p. a. . . .	0,40 g

6. Lichidul Zenker — formol

Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	5 ml
Cod	8 715 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst.* pur	2 g
Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . . .	1 g
Cod	10 384	*Lugolum solutio* p. a.	10 ml
Cod	11 782	*Natrium bisulfurosum cryst.* p. a. . .	0,50 g
Cod	12 367	*Natrium sulfurosum cryst.* p. a. . . .	0,40 g

7. Lichidul Maximov

Cod	1 245	*Acidum osmicum solutio* 2% p. a. . .	4 ml
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	4 ml
Cod	8 715 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst.* pur .	2 g
Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . . .	1 g
Cod	10 384	*Lugolum solutio* p. a.	10 ml
Cod	12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	0,50 g
Cod	12 367	*Natrium sulfurosum cryst.* p. a. . . .	0,40 g

8. Lichidul Nikiforov

Cod	136	*Acidum aceticum anhydricum* p. a. . .	II picături
Cod	1 245	*Acidum osmicum solutio* 2% p. a. . .	2 ml
Cod	9 540 +)	*Kalium bichromicum* 96—98% p. a. .	1 g
		Hydrargyrum bichloratum soluție saturată în soluție clorurată 0,9% . .	20 ml

Scanned with OKEN Scanner

b) *Fixatori nucleari*

1. Lichidul Allen

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	2 ml
Cod	662 A	*Acidum chromicum anhydricum purum*	0,60 g
Cod	1 397	*Acidum picricum* p. a.	1,20 g
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	10 ml
Cod	16 441	*Urea puriss.*	0,7 g

2. Lichidul Carnoy

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	10 ml
Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	60 ml
Cod	5 563 a	*Chloroformium* p. a.	30 ml

3. Lichidul Fleming

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* 1% .	2 ml
Cod	1 245	*Acidum osmicum solutio* 2%	8 ml
		Acidum chromicum soluție 1% . . .	30 ml

4. Lichidul Tellyesniczky

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	2 ml
Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . . .	1,2 ml

c) *Fixatori speciali*

Pentru condriom

1. Lichidul lui Champy

Pentru fixare

Cod	1 245	*Acidum osmicum solutio* 2%	12 ml
Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . . .	0,63 g
		Acidum chromicum soluție 1% . . .	21 ml

Pentru cromare

Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . . .	1 g

2. Lichidul lui Roschin (pentru condriom)

Cod	1 245	*Acidum osmicum solutio* 2%	30 ml
Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . . .	0,38 g

3. Lichidul lui Regaud

Pentru fixare

Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	40 ml
Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . . (pt. 160 ml sol. 3%)	4,8 g

Scanned with OKEN Scanner

Pentru cromare schimbînd lichidul de 3 ori

Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . . . (pt. 150 ml sol. 3%)	4,5 g

4. Fixatorul Țupa

Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . . .	1,80 g
Cod	16 422	*Uraniu nitricum* p. a.	0,6 g

5. Lichidul Ciasovnikov

Cod	1 245	*Acidum osmicum solutio* 2%	10 ml
		Soluție clorurată 0,9% *saturată cu Hydrargyrum bichloratum*	30 ml

6. Lichidul Podvîsoțki

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	III picături
Cod	1 245	*Acidum osmicum solutio* 2%	1,4 ml
Cod	8 715 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst.* pur.	2 g
		Acidum chromicum soluție 1% . . .	5 ml

Pentru grăsimi

1. Fixatorul lui Ciaccio

Fixare

Cod	830	*Acidum formicicum* 98%—100% g p. a.	II picături
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	10 ml
Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . . . (pentru 40 ml sol. 5%)	2 g

Pentru cromare

Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur (pt. 40 ml sol. 3%)	1,20 g

III. INCLUDEREA ȘI SECȚIONAREA PIESELOR

1. Includerea la parafină

Deshidratarea și clarificarea pieselor

Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a. . . .	800 ml
Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus obsolutus purum* .	1 200 ml
Cod	2 417	*Alcohol methylicus* p. a.	1 200 ml
		sau	
Cod	6 869	*Dioxanum* p. a.	1 200 ml
Cod	16 974	*Xilolum* (-thyophen) *purum*	1 200 ml
		sau	
Cod	3 937	*Benzolum* D = 0,879 p. a	1 200 ml
		sau	
Cod	16 138	*Toluolum* p. a.	1 200 ml

Scanned with OKEN Scanner

Includerea pieselor în parafină

Cod 5 228	*Carboanimalis pulvis puriss.*	30 g
Cod 5 352	*Cera flava purum*	300 g
Cod 13 676	*Paraffinum hystologicum* 50°—52° *purum*	3 000 g

Lipirea secţiunilor pe lame

Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	50 g

2. Includerea la celoidină

Deshidratarea pieselor

Cod 1 774	*Aether aethylicus anh.* p. a.	1 500 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* . .	2 500 ml
Cod 5 318	*Celloidinum hystologicum purum* . .	500 g

IV. TEHNICA GENERALĂ A SECŢIUNILOR

a) *Secţiuni la parafină*

Pregătirea pentru montarea secţiunilor

Deparafinare

Cod 16 974	*Xilolum* (-thyophen) *purum*	1 300 ml
	sau	
Cod 16 138	*Toluolum* p. a.	1 300 ml
	sau	
Cod 3 937	*Benzolum* D = 0,879 p. a.	1 300 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	1 200 ml

Deshidratare

Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	500 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* . .	200 ml

Clarificare

Cod 16 974	*Xilolum* (-thyophen) *purum*	200 ml
	sau	
Cod 16 138	*Toluolum* p. a.	200 ml
	sau	
Cod 3 937	*Benzolum* D=0,879 p. a.	200 ml

1. Montare în lichide nemiscibile cu apa

Cod 3 732	*Balsamum canadense neutrale purum* .	80 ml
Cod 13 328	*Oleum cedri spissum pro optica purum*	80 ml

Scanned with OKEN Scanner

b) *Secţiuni la gheaţă sau celoidină*

Deshidratare

Cod	581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	0,01 g
		sau	
Cod	9 934	*Kreosotum purum*	250 ml
Cod	2 334	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	1 000 ml
Cod	16 974	*Xilolum* (-thyophen) *purum*	250 ml

2. Montarea în lichide miscibile cu apă

Cod	8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	100 ml

Prepararea lichidelor

a) *Gelatină*

Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	5 ml
Cod	8 041	*Gelatina alba pulvis purum*	20 g

b) *Gelatină-glicerină*

Cod	581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	2 g
Cod	8 041	*Gelatina alba pulvis purum*	14 g
Cod	8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	100 g

c) *Sirop Apathy*

Cod	8 271	*Gummi arabicum pulvis purum* . . .	100 g
		Formaldehydum soluţie 1%	4 ml
		Sachar pulvis	100 g

V. COLORAŢII UZUALE

A. COLORAŢII COMBINATE

a) *Coloraţia hemalaun — eosină*

Cod	136	*Acidum aceticum anhydricum* p. a. . .	10 ml
		sau	
		Acidum hydrochloricum officinalis . .	10 ml
Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . . .	10 ml
Cod	691	*Acidum citricum cryst.* p. a.	1 g
Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	50 ml
Cod	5 505	*Chloratum hydricum* p. a.	50 g
Cod	9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. .	75 g
Cod	10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a. . . .	22,50 g
Cod	12 055	*Natrium jodicum* p. a.	0,30 g
Cod	19 435	*Eosin blau spiritus solubile*	7 g
Cod	19 439	*Eosin gelb aqua solubile* Y.S.	7 g
		sau	
Cod	19 745	*Hematoxylinum purum*	1,50 g
Cod	19 768	*Hemateinum purum*	1 g
Cod	20 390	*Orange G*	1,55 g
		Alcohol aethylicus 70°	700 ml

Scanned with OKEN Scanner

b) *Coloraţia cu hematoxilină Weigert-eosină*

Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	400 ml
Cod	19 435	*Eosin blau spiritus solubile*	2 g
Cod	19 439	*Eosin gelb aqua solubile* Y.S.	2 g
Cod	19 745	*Hematoxylinum purum*	1 g
Cod	20 390	*Orange G*	0,50 g
		Perclorură de fier soluţie 29%	4 ml
		Alcohol aethylicus 70°	200 ml
		Acid hydrochloricum officinalis	2 ml
		Lithium carbonicum soluţie saturată	10 ml

c) *Coloraţii tricromice*

Metoda de colorare van Gieson

Cod	136	*Acidum aceticum anhydricum* p. a.	1 ml
Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum* (-As) p. a. D=1,19	2 ml
Cod	1 397	*Acidum picricum* p. a.	40 g
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	200 ml
Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum*	10 ml
Cod	9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a.	7,5 g
Cod	10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a.	15 g
Cod	12 055	*Natrium iodicum* p. a.	0,03 g
Cod	18 632	*Acidum rubin (Fuchsina S)*	1 g
Cod	19 745	*Hematoxylinum purum*	2 g
		Perclorură de fier soluţie 29%	4 ml

Coloraţia van Gieson modificată de Hansen

Cod	1 397	*Acidum picricum* p. a.	8 g
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	200 ml
Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum*	200 ml
Cod	3 103 +)	*Ammonium sulfuricum* pt. a.	1,40 g
Cod	7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.	10 g
Cod	18 632	*Acidum rubin (Fuchsin S)*	0,25 g
Cod	19 745	*Hematoxylinum purum*	1,60 g
		Acidum aceticum soluţie 2%	IV picături

Coloraţia tricromică Masson

Cod	136	*Acidum aceticum anhydricum* p. a.	13 ml
Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum* (-As) D=1,19 p. a.	6 ml
Cod	1 353	*Acidum phosphomolibdaenicum* p. a.	3 g
Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum*	300 ml
Cod	10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a.	15 g
Cod	18 632	*Acidum rubin (Fuchsin S)*	1 g
Cod	18 754	*Anilin blau aqua solubile*	1,50 g
Cod	19 745	*Hematoxylinum purum*	3 g

Scanned with OKEN Scanner

Cod	20 378	*Orange G*	6 g
Cod	20 550	*Ponceau 4 R.*	2 g
		Perclorură de fier soluţie 29% . . .	12 ml
		Alcohol aethylicus 90°	300 ml

Coloraţia policromă (Simionescu)

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	50 ml
Cod	1 379	*Acidum phosphotungsticum* p. a. . . .	5 g
Cod	20 064	*Methanyl gelb*	0,25 g
Cod	20 068	*Methyl blau*	1,50 g
Cod	20 550	*Ponceau 4 R*	1,50 g

B. METODE ELECTIVE DE COLORARE

Coloraţii histologice pentru structuri tisulare sau organe

1. Fibre conjunctive propriu-zise (colagen)

a) *Coloraţie cu Kernechtrot*

Cod	1 251 +)	*Acidum oxalicum cryst.* p. a.	2 g
Cod	2 747 +)	*Aluminium sulfuricum* pt. a.	5 g
Cod	18 754	*Anilin blau aqua solubile*	0,5 g
Cod	19 857	*Kernecht rot pro mikroskopie* . . .	0,1 g
Cod	20 378	*Orange G*	2 g
		Acidum phosphomolibdaenicum soluţie 1%	100 ml

b) *Coloraţie cu carmalaun Mayer*

Cod	1 454 +)	*Acidum salicylicum* p. a.	0,2 g
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	1 ml
Cod	9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. .	12 g
Cod	19 072	*Carminum*	10 g
		sau	
Cod	19 067	*Carminum Mayer*	10 g
		Kalium aluminium sulfuricum soluţie apoasă 1%	100 ml

c) *Coloraţie van Gieson-galben metanil (Masson)*

Cod	136	*Acidum aceticum anhydricum* p. a. . .	4 ml
Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As* D=1,19 p. a.	2 ml
Cod	1 397	*Acidum picricum* p. a.	8 g
Cod	2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	200 ml
Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . .	6 g
Cod	18 632	*Acidum rubin*	2 g
Cod	19 745	*Hematoxylinum purum*	2 g
Cod	20 064	*Methanyl gelb*	1 g
		Perclorură de fier soluţie 29% . . .	8 ml

Scanned with OKEN Scanner

d) Coloraţie hematoxilină-picro-Ponceau

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.* D=1,19 pt. a.	2 ml
Cod	1 397	*Acidum picricum* p. a.	8 g
Cod	2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a.	200 ml
Cod	19 745	*Hematoxylinum purum*	2 g
Cod	20 554	*Ponceau S.*	0,2 g
		Acidum aceticum soluţie 1% p. a.	L picăt.
		Perclorură de fier soluţie 29%	8 ml

e) Colorarea cu amestecul Mallory

Cod	1 251 +)	*Acidum oxalicum cryst.* p. a.	2 g
Cod	18 632	*Acidum rubin*	0,50 g
Cod	18 754	*Anilin blau aqua solubile*	0,50 g
Cod	20 378	*Orange G*	2 g
		Acidum phosphomolibdaenicum soluţie 2% p. a.	100 ml

2. Fibre elastice

a) Metoda cu fucsină — rezorcină (Fucselină Weigert)

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.* D = 1,19 p. a.	0,70 ml
Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum*	250 ml
Cod	2 747 +)	*Aluminium sulfuricum* pt. a.	5 g
Cod	7 646	*Ferrum chloratum oxydatum anhydricum* p. a.	2 g
Cod	14 730	*Resorcinum resublimatum* p. a.	1 g
Cod	18 632	*Acidum rubin*	0,50 g
Cod	19 857	*Kernecht rot pro mikroskopie*	0,1 g

3. Amiloidul

a) Reacţie cu iod

Cod	10 384	*Lugolum solutio* p. a.	100 ml
Cod	10 385	*Lugolum solutio pro mikroskopie purum*	10 ml

b) Reacţie metacromatică cu violet de metil

Cod	9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a.	7 g
Cod	19 714	*Gentiana violet*	1 g

c) Colorarea cu roşu de Congo

Cod	10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a.	15 g
Cod	19 162	Congo rot	1 g

Scanned with OKEN Scanner

4. Hialinul şi Coloidul

a) *Metoda Russel*

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	10 g
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	10 ml
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	1 g
Cod 19 852	*Iod grün*	1 g

5. Nucleul

a) *Coloraţia cu hematoxilină ferică (Heidenheim)*

Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	10 ml
Cod 7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.	40 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	1 g

b) *Coloraţia cu carmin alaun (Grenacher)*

Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	1 ml
Cod 9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. .	4 g
Cod 19 072	*Carminum*	2 g
	sau	
Cod 19 053	*Carminum alaun Grenacher*	2 g

6. Protoplasma celulară

a) *Metoda cu hematoxilină Regaud (pentru mitocondrii)*

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	1 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	10 ml
Cod 7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.	6 g
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	10 g
Cod 10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a. . .	0,30 g
Cod 19 435	*Eosin blau spiritus solubile*	1 g
Cod 19 439	*Eosin gelb aqua solubile*	1 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	1 g
Cod 20 378	*Orange G*	0,25 g
	Alcohol aethylicus 70°	100 ml

7. Mucusul

a) *Coloraţia cu mucicarmin (Mayer)*

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	0,02 g
Cod 2 635 +)	*Aluminium chloratum cryst.* pt. a. . .	0,5 g
Cod 19 072	*Carminum*	1 g
Cod 20 064	*Methanyl gelb*	0,05 g
	Alcohol aethylicus 50°	50 ml

Scanned with OKEN Scanner

b) *Coloraţia cu thionină (Hoyer)*

Cod	8 715 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst.* pur .	5 g
		Thionin (lauts violet) soluţie saturată .	XI picături

c) *Colorarea metacromatică cu albastru toluidină*

Cod	20 872	*Toluidin blau*	1 g

Produse de depozit

1. Coloraţia grăsimilor neutre

a) *Coloraţia cu Sudan III (Scharlach R)*

Cod	9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. .	75 g
Cod	12 055	*Natrium iodicum* p. a.	0,30 g
Cod	19 745	*Hematoxylinum purum*	1,50 g
Cod	20 716	*Scharlach R.*	0,30 g
		sau	
Cod	20 756	*Sudan III*	0,30 g
		Alcohol aethylicus 70°	100 ml

b) *Coloraţia cu albastru de Nil (Nilblau)*

		Nilblau soluţie apoasă saturată . . .	200 ml
		Acidum aceticum soluţie 1%	200 ml

2. Colorarea glicogenului

a) *Coloraţia cu gumă iodată (Brault Ehrlich)*

Cod	8 271	*Gummi arabicum pulvis purum* . . .	10 g
Cod	9 373	*Jodum metallicum purum*	1 g
Cod	9 695 b	*Kalium iodatum* p. a.	10 g

b) *Metoda Best*

Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	150 ml
Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	80 ml
Cod	2 417	*Alcohol methylicus* pt. a.	40 ml
Cod	2 882	*Ammonia liquida purum*	170 ml
Cod	9 590	*Kalium carbonicum hydricum* p. a. . .	1 g
Cod	9 599 a	*Kalium chloratum cryst. purum* . . .	5 g
Cod	19 076	*Carminum rubrum optimum*	2 g

c) *Metoda Bauer-Feulgen*

Cod	662 A	*Acidum chromicum anhydricum purum*	4 g
Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.* D = 1,19 p. a.	30 ml
Cod	9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. .	7,5 g
Cod	11 784	*Natrium bisulfurosum meta* p. a. . .	2 g
Cod	12 055	*Natrium iodicum* p. a.	0,03 g
Cod	19 626	*Fuchsin basicum*	1 g
Cod	19 745	*Hematoxylinum purum*	0,15 g

Scanned with OKEN Scanner

C. ORGANE HEMATOPOETICE

1. Măduva osoasă

a) *Metoda panoptică*

Cod 9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p.a.	0,48 g
Cod 12 217 A	*Natrium phosphoricum bibasicum* p. a.	1,12 g
Cod 19 724	*Sol. Giemsa-Romanovski*	10 ml
	Sol. May-Grünwald	120 ml

2. Ganglionul limfatic

a) *Metoda Giemsa*

Cod 35	*Acetonum purum*	300 ml
Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	2 ml
Cod 9 786	*Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.	0,48 g
Cod 12 217 A	*Natrium phosphoricum bibasicum* pt. a.	1,12 g
Cod 16 974	*Xilolum* (-thyophen) *purum*	300 ml
Cod 19 724	*Sol. Giemsa-Romanovski*	12 ml
	Sol. May-Grünwald	20 ml

b) *Coloraţia cu hematoxilină Mayer-Eosină*

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	0,5 ml
Cod 926 A	*Acidum hydrochloricum sine As.* D = 1,19 p. a.	2 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	400 ml
Cod 9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. . .	75 g
Cod 10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a. . . .	30 g
Cod 12 055	*Natrium iodicum* p. a.	0,30 g
Cod 19 435	*Eosin blau spiritus solubile*	7 g
Cod 19 439	*Eosin gelb aqua solubile*	7 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	7,5 g
Cod 20 378	*Orange G*	1,75 g

D. PRODUSELE PROCESELOR INFLAMATOARE

FIBRINA

a) *Metoda Weigert*

Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	10 ml
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	1 ml
Cod 9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. . .	4 g
Cod 16 974	*Xilolum* (-thyophen) *purum*	40 ml
Cod 19 072	*Carmin*	2 g
Cod 19 716	*Genţiana violet solutio alcoholum* . .	11 ml
	Natrium chloratum sol. 0,6%	100 ml
	Oleum anilini	90 ml

Scanned with OKEN Scanner

E. IMPREGNAREA ARGENTAFINĂ

Impregnarea fibrelor de reticulină

a) *Metoda Gömöri*

Cod 2 882	*Ammonia liquida purum*	50 ml
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	1 g
Cod 3 558	*Aurum chloratum solutio 2% purum* .	10 ml
Cod 7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxidatum* p. a.	2 g
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	10 ml
Cod 9 709	*Kalium meta bisulfurosum* p. a. . . .	4 g
Cod 9 767	*Kalium permanganicum* p. a.	1 g
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	1 g
Cod 18 494	*Natrium hidricum* N/1	2 ml

b) *Metoda Wilder*

Cod 2 882	*Ammonia liquida purum*	50 ml
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	2,55 g
Cod 3 558	*Aurum chloratum solutio 2% purum* .	50 ml
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	1 ml
Cod 10 624 a	*Magnesium carbonicum* p. a.	1 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	3,1 g
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	5 g
Cod 16 422	*Uranium nitricum* p. a.	1 g
	Acidum phosphomolibdaenicum soluție 10%	100 ml
	sau	
	Kalium permanganicum soluție 0,25%	100 ml

F. TESUTURI — ORGANE

1. Metode pentru țesut cartilaginos

a) *Metoda de colorare cu vezuvina fenicată sau brun Bismarck*

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	10 g
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	10 ml
Cod 9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. .	7,5 g
Cod 12 055	*Natrium iodicum* p. a.	0,03 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	0,15 g
Cod 20 021	*Licht grün S*	0,2 g
Cod 20 934	*Vesuvin*	1 g

2. Țesutul osos

Metoda Enescu

Cod 35	*Acetonum purum*	100 ml
Cod 19 728 +)	*Giemsa Azur II sol.*	20 ml

Scanned with OKEN Scanner

Colorarea cu tionină (Schmorl)

Cod	2 882	*Ammonia liquida purum*	V picături
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	29 ml
		Acidum phosphotungsticum soluţie 5%	100 ml
		Soluţie saturată de tionină în alcool 50°	5 ml
		Alcohol aethylicus 70°	100 ml

3. Ţesutul muscular

Muşchi netezi

a) *Metoda Fabre (muşchi netezi)*

Cod	9 509	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. . .	7,5 g
Cod	11 743 +)	*Natrium bicarbonicum* pt. a.	3 g
Cod	12 055	*Natrium iodicum* p. a.	0,03 g
Cod	19 412	*Eosin*	0,50 g
Cod	19 745	*Hematoxylinum purum*	0,15 g

b) *Metoda Neubert-Petrescu (muşchi netezi)*

Cod	1 379	*Acidum phosphotungsticum* p. a. . . .	100 ml
Cod	2 747+)	*Aluminium sulfuricum* pt. a.	10 g
Cod	18 654	*Alizarin blau acidum*	0,50 g

Fibra musculară striată

c) *Coloraţia cu hematoxilină ferică*

(Heidenheim)

Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	10 ml
Cod	7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.	4 g
Cod	19 745	*Hematoxylinum purum*	1 g

Fibra musculară cardiacă

d) *Metoda Heidenheim*

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . . .	1 ml
Cod	18 990	*Brillant schwartz*	1 g
Cod	20 872	*Toluidin blau*	1 g

4. Ţesuturi glandulare

a) *Ficatul*

Metoda Farzgren pentru pigmenţi biliari

Cod	1 251 +)	*Acidum oxalicum cryst.* p. a.	2 g
Cod	1 353	*Acidum phosphomolibdaenicum* p. a. .	100 ml
Cod	3 760 A	*Barium chloratum* p. a.	3 g
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	25 ml
Cod	18 632	*Acidum rubin*	1 g
Cod	20 390	*Orange G*	0,50 g

Scanned with OKEN Scanner

Metoda Eppinger (canaliculele biliare)

Cod	5 666	*Chromium floratum oxidatum* p. a. . .	2,5 g
Cod	5 921 +)	*Cuprum aceticum oxydatum* pt. a. . .	50 g
Cod	9 639	*Kalium ferri cyanatum* p. a.	2 g
Cod	13 338	*Oleum origani purum*	50 ml
Cod	19 065	*Carminum lithium*	5 g
Cod	19 745	*Hematoxylinum purum*	1 g
		Sol. acidum hidrochloricum soluție 1%	100 ml

b) *Adenohipofiza*

Metoda Hurduc

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	10 ml
Cod	929	*Acidum hydrochloricum* D=1,17—1,19 purum	1 ml
Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	1 000 ml
Cod	2 882	*Ammonia liquida purum*	5 ml
Cod	7 646	*Ferrum chloratum oxidatum anhydricum* p. a.	2,9 g
Cod	19 745	*Hematoxylinum purum*	1 g
Cod	20 064	*Methanyl gelb*	0,40 g
Cod	20 068	*Methyl blau*	1 g
Cod	20 550	*Ponceau 4 R*	2 g
		Perclorură de fier soluție 29% . . .	4 ml

c) *Glandele suprarenale*

Coloraţia celulelor cromafine

Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	100 ml
Cod	9 540 +)	*Kalium bichromicum* 96°—98° p. a. .	10 g
Cod	20 706	*Safraninum T*	1 g
Cod	20 872	*Toluidin blau*	1 g
		Formaldehydum soluție 1%	20 ml

d) *Tiroida*

Metoda de coloraţie Bensley

Cod	1 353	*Acidum phosphomolibdaenicum* p. a. .	1 g
Cod	1 379	*Acidum phosphotungsticum* p. a. . . .	1 g
Cod	18 954	*Brazilinum*	0,05 g
Cod	20 068	*Methyl blau*	0,20 g

Metoda de coloraţie Krauss

Cod	843	*Acidum gallotanicum anhydricum* pur	33,25 g
Cod	1 353	*Acidum phosphomolibdaenicum* p. a. .	1 g
Cod	1 774	*Aether aethylicus anhydricum* p. a. . .	25 ml
Cod	8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	25 ml
Cod	18 632	*Acidum rubin*	3,25 g
Cod	20 534	*Polichrom methylen blau solutum* . .	100 ml

Scanned with OKEN Scanner

e) *Pancreasul*

Metoda Lane pentru studiul insulelor Langerhans

Cod 35	*Acetonum purum*	200 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	25 ml
Cod 2 417	*Alcohol methylicus* p. a.	50 ml
Cod 21 452	*Oleum cinammoni cassiae*	75 ml
	Alcohol aethylicus 20°	200 ml
	Genţiana violet soluţie saturată apoasă	50 ml
	Orange G soluţie apoasă	50 ml

Metoda Bensley

Cod 1 397	*Acidum picricum* p. a.	30 g
Cod 2 417	*Alcohol methylicus* p. a.	50 ml
Cod 3 006	*Ammonium molibdaenicum cryst. purum*	5 g
Cod 18 632	*Acidum rubin*	6 g
	Alcohol aethylicus 20°	100 ml
	Alcohol aethylicus 70°	100 ml
	Genţiana violet soluţie saturată apoasă	50 ml
	Orange G soluţie saturată apoasă . .	50 ml
	Apă anilinată saturată	100 ml

f) *Epiſiza*

Metoda Hortega

Cod 2 882	*Ammonium liquida purum*	25 ml
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	0,70 g
Cod 3 558	*Aurum chloratum solutio 2% purum* .	50 ml
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	10 ml
Cod 11 847 +)	*Natrium carbonicum siccum* pt. a. . .	0,50 g
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	5 g
Cod 14 376	*Pyridinum purum*	X picături

g) *Pielea*

Metoda Pasini

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	10 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	200 ml
Cod 8154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	80 ml
Cod 13 357	*Orceinum purum*	2 g
Cod 18 754	*Anilin blau aqua solubile*	1 g
Cod 19 435	*Eosin blau spiritus solubile*	4 g
	Acidum phosphotungsticum soluţie 2%	200 ml
	Alcohol aethylicus 50°	200 ml
	Fuchsin S soluţie saturată apoasă . .	200 ml

Scanned with OKEN Scanner

VI. COLORAREA AGENȚILOR PATOGENI ÎN ȚESUTURI

a) *Colorarea pentru bacterii Gram — negativ și pozitiv*

Metoda Gram

Cod	581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	4 g
Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum, sine As.* D = 1,19 p. a.	2 ml
Cod	1 454 +)	*Acidum salycilicum* p. a.	0,02 g
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	200 ml
Cod	2 602 +)	*Alumen amoniacale* pt. a.	10 g
Cod	10 385	*Lugolum solutio* p. a.	200 ml
Cod	19 072	*Carminum*	2 g
		Genţiana violet soluţie saturată alcoolică	10 ml

b) *Colorarea bacilului Koch*

Colorarea Ziehl în ţesuturi

Cod	581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	10 g
Cod	1 022	*Acidum lacticum* D = 1,21 p. a. . . .	10 ml
		sau	
Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum* D = 1,19 (-As) p. a.	2 ml
Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	20 ml
Cod	19 626	*Fuchsin basicum*	2 g
Cod	20 120	*Methylen blau*	2 g
		Alcohol aethylicus 70°	200 ml
		Alcohol aethylicus anhydricum . . .	200 ml

c) *Colorarea spirochetelor prin impregnare argentică*

Metoda Monouélian

Cod	1 424	*Acidum pyrogallicum resublimat* p. a.	2 g
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	500 ml
Cod	3 431	*Argentum nitricum* p. a.	2 g
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	65 ml

Metoda Levaditti

Cod	35	*Acetonum purum*	10 ml
Cod	1 424	*Acidum pyrogallicum resublimat* p. a.	90 ml
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	300 ml
Cod	3 431	*Argentum nitricum* p. a.	3 g
Cod	7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	100 ml
Cod	14 376	*Pyridinum purum*	10 ml

Scanned with OKEN Scanner

d) *Colorarea incluziunilor patologice în țesuturi*
Cercetarea corpusculilor Babeș—Negri în turbare

Metoda Mann

Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	130 ml
Cod 10 310	*Liquor natrii caustici* (—N) D = 1,23 p. a.	V picături
Cod 19 441	*Eosin gelblich*	1,45 g
Cod 20 068	*Methyl blau*	0,35 g

Metoda Zottner

Cod 581	*Acidum carbolicum cryst.* p. a. . . .	5 g
Cod 1 189	*Acidum nitricum* (—Cl, Pb) D = 1,42 pt. a.	100 ml
Cod 1 397	*Acidum picricum* p. a.	2 g
Cod 2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	100 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	110 ml
Cod 10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a. . .	0,15 g
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	1 g
Cod 19 800	*Indigo carminum*	0,50 g

Punerea în evidență, în ficat, a incluziunilor Nicolau

Metoda Nicolau

Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	130 ml
Cod 10 310	*Liquor natrii caustici* 1% p. a. . . .	V picături
Cod 19 439	*Eosin gelb aqua solubile Y.S.*	0,24 g
Cod 20 068	*Methyl blau*	0,16 g

Metoda Nicolau—Kopciovska

Cod 1 251 +)	*Acidum oxalicum* p. a.	0,30 g
Cod 2 417	*Alcohol methylicus p. a.*	66 ml
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	10 ml
Cod 18 632	*Acidum rubin*	1,5 g
Cod 20 120	*Methylen blau*	1,5 g

VII. PIGMENȚI

a) *Coloraţia pigmentului melanic şi al celulelor argentafine*

Metoda cu oxid de argint amoniacal

Cod 2 882	*Ammonia liquida purum*	50 ml
Cod 3 073 +)	*Ammonium rhodanatum (sulfocyanatum) cryst.* pt. a.	5 g
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	5 g
Cod 3 558	*Aurum chloratum solutio* 2% *purum*	50 ml
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	8 g

Scanned with OKEN Scanner

b) *Colorarea pigmentului feruginos şi feros*

Metoda cu albastru de Prusia (reacţia Perls)

Cod	138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	1 ml
Cod	2 334 +)	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	100 ml
Cod	2 747 +)	*Aluminium sulfuricum* pt. a.	5 g
Cod	9 642	*Kalium ferro cyanatum* p. a.	2 g
Cod	19 857	*Kernecht rot pro mikroskopie*	0,1 g
		Acidum hydrochloricum soluţie 1% . .	100 ml

Metoda Vogel cu albastru Turnbull

Cod	926 A	*Acidum hydrochloricum* (-As) D=1,19 p. a.	50 ml
Cod	3 102 +)	*Ammonium sulfuricum* pt. a.	10 g
Cod	9 639	*Kalium ferri cyanatum* p. a.	10 g

VIII. SISTEMUL NERVOS

a) *Metoda Golgi de colorare a celulei nervoase*

Cod	1 245	*Acidum osmicum solutio* 2% p. a. . .	50 ml
Cod	2 335 a	*Alcoholum aethylicus absolutus purum*	500 ml
Cod	3 431	*Argentum nitricum* p. a.	6 g
Cod	9 541 +)	*Kalium bichromicum* chimic pur . .	20 g
Cod	9 934	*Kreosotum purum*	80 ml
		sau	
Cod	13 328	*Oleum cedri spisum pro optica purum*	80 ml
		sau	
Cod	13 320	*Oleum bergamotae* p. a.	80 ml

b) *Metoda de colorare a substanţei cromoidale*

Metoda Nissl

Cod	2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	500 ml
Cod	5 837	*Collophonium purum*	25 g
Cod	8 271	*Gummi arabicum pulvis purum* . . .	50 g
Cod	9 934	*Kreosotum purum*	50 ml
Cod	13 322	*Oleum cajeputti purum*	40 ml
Cod	16 974	*Xilolum* (-thiophen) *purum*	50 ml
Cod	20 120	*Methylen blau*	3,75 g
		sau	
Cod	20 014	*Lauts violet* (Thionin)	1 g
		Oleum anilini	10 ml

c) *Metoda de impregnare a neurofibrilelor*

Metoda Bielsowski

Cod	2 882	*Ammonia liquida purum*	25 ml
Cod	3 431	*Argentum nitricum* p. a.	2,5 g

Scanned with OKEN Scanner

Cod 3 558	*Aurum chloratum solutio 2% purum* .	25 ml
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	200 ml
	Natrium hydricum soluție 40% . . .	V picături

Metoda prin tratarea prealabilă a pieselor cu piridină

Cod 2 882	*Ammonia liquida purum*	25 ml
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	3,5 g
Cod 3 558	*Aurum chloratum solutio 2% purum* .	25 ml
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	200 ml
Cod 12 415	*Natrium thyosulfuricum* p. a.	10 g
Cod 14 376	*Pyridinum purum*	200 ml

d) *Colorarea mielinei*

Metoda Benda—Spielmayer

Cod 7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxidatum* p. a.	5 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	0,50 g
	Alcohol aethylicus 70°	500 ml

Variantă a metodei Spielmayer

Cod 2 334 a	*Alcohol aethylicus* 90° pt. a.	200 ml
Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	275 ml
Cod 7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.	6,5 g
Cod 9 934	*Kreosotum purum*	50 ml
Cod 13 322	*Oleum cajeputti purum*	40 ml
Cod 14 745	*Hematoxylinum purum*	2,5 g
	Alcohol aethylicus 70°	200 ml

Metoda Loyez

Cod 2 335 a	*Alcohol aethylicus absolutus purum* .	10 ml
Cod 2 882	*Ammonia liquida purum*	V picături
Cod 7 619 a	*Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.	4 g
Cod 9 639	*Kalium ferri cyanatum* p. a.	2 g
Cod 10 332	*Lithium carbonicum pulvis* p. a. . . .	1,5 g
Cod 11 799 a	*Natrium boracicum cryst.* p. a. . . .	2 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	1 g

e) *Colorarea nevrogliei*

Metoda I. T. Niculescu Horneț — varianta I

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	20 ml
Cod 1 251 +)	*Acidum oxalicum cryst.* p. a.	5 g
Cod 2 882	*Ammonia liquida purum*	XXV de picături

Scanned with OKEN Scanner

Cod 8 715 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst.* pur .	0,50 g
Cod 11 782	*Natrium bisulfurosum cryst.* p. a. . .	10 g
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	5 g
	Aurum chloratum soluţie 1/75 . . .	7 ml
	Acidum bromhidricum soluţie 5% . .	125 ml

Metoda I. T. Niculescu Horneţ — varianta a II-a

Cod 2 882	*Amonia liquida purum*	10 ml
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	1 g
Cod 7 809	*Formaldehydum* 40% p. a.	100 ml
Cod 12 415	*Natrium thyosulfuricum* p. a.	5 g
	Aurum chloratum soluţie 1/500 . . .	100 ml
	Acidum bromhidricum soluţie 5% . .	100 ml
	Natrium hydricum soluţie 40% . . .	X picături

f) *Metode de impregnare a terminaţiilor nervoase şi fibrilelor*

Metoda Bielsowski—Gross—Schultze

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	XX de picături
Cod 2 882	*Ammonia liquida purum*	50 ml
Cod 3 431	*Argentum nitricum* p. a.	20 g
Cod 3 558	*Aurum chloratum solutio 2% purum* .	10 ml
Cod 12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	5 g
	Formaldehydum soluţie 20%	150 ml

IX. HISTOCHIMIE

1. Evidenţierea mucopolizaharidelor

a) *Evidenţierea mucopolizaharidelor neutre*

Reacţia P.A.S. (Periodic acid Schiff) Hotchkiss Mac Manus

Cod 136	*Acidum aceticum anhydricum* p. a. . .	100 ml
Cod 926 A	*Acidum hydrochloricum* (-As.) D=1,19 p. a.	20 ml
Cod 1 298	*Acidum perjodicum* p. a.	1 g
Cod 9 672	*Kalium hydricum in rotulis* p. a. . .	4 g
Cod 11 783	*Natrium bisulfurosum meta purum* . .	17 g
Cod 14 376	*Pyridinum purum*	120 ml
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	1,50 g
Cod 20 021	*Licht grün S*	0,20 g

b) *Evidenţierea mucopolizaharidelor acide*

Metoda Hale

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	12 ml
Cod 9 639	*Kalium ferri cyanatum* p. a.	1 g
Cod 20 874	*Toluilen rot (neutral rot)*	1 g
	Fier dializat	100 ml

Scanned with OKEN Scanner

2. Evidenţierea succindehidrogenazei

Metoda Nachlas

Cod 9 788 b	*Kalium phosphoricum monobasicum anhydrum purum*	2 g
Cod 11 860 A	*Natrium chlorat cryst.* p. a.	10 g
Cod 12 217 A	*Natrium phosphoricum bibasicum* p. a.	15 g
	Nitro BT	0,2 g

3. Punerea în evidenţă a acizilor nucleici

a) *Metoda Brachet modificată*

Cod 558	*Acidum butyricum normal* p. a. . . .	100 ml
Cod 5 563 a	*Cloroformium* p. a.	500 ml
Cod 18 616	*Acidum grün*	0,50 g
Cod 20 588	*Pyronin G*	5 g

b) *Reacţia Feulgen pentru evidenţierea acidului dezoxyribonucleic*

Cod 926 A	*Acidum hydrochloricum* (-As.) D = 1,18 p. a.	80 ml
Cod 1 298	*Acidum perjodicum* p. a.	1 g
Cod 11 783	*Natrium bisulfurosum meta purum* .	17 g
Cod 19 626	*Fuchsin basicum*	1,5 g

4. Evidenţierea fosfatazei

a) *Metoda Gömöry (fosfataze alcaline)*

Cod 5 036 +)	*Calcium chloratum* pt. a.	4 g
Cod 5 105 +)	*Calcium nitricum* pt. a.	5 g
Cod 5 784 +)	*Cobaltum nitricum oxydatum* p. a. . .	5 g
Cod 10 741 A	*Magnesium sulfuricum* pt. a.	1 g
Cod 11 920	*5-5-Natrium diaethylbarbituricum* p. a.	4 g
Cod 11 978	*Natrium glicerophosphoricum beta* p. a.	6 g
Cod 20 021	*Licht grün S*	1 g
	Polisulfură de ammonium concentrat .	5 ml

b) *Fosfataze acide*

Cod 138	*Acidum aceticum glaciale purum* . .	3 g
Cod 11 637	*Natrium aceticum anhydricum* p. a. . .	8 g
Cod 11 978	*Natrium glicerophosphoricum beta* p. a.	4 g
Cod 14 216 +)	*Plumbum nitricum* pt. a.	2 g

Scanned with OKEN Scanner

INDEX

Cod :

35 *Acetonum purum*
136 *Acidum aceticum anhydricum* p. a.
138 *Acidum aceticum glaciale purum*
558 *Acidum butyricum normal* p. a.
581 *Acidum carbolicum cryst.* p. a. (acid fenic, fenol)
662 A *Acidum chromicum anhydricum purum*
691 *Acidum citricum cryst.* p. a.
830 *Acidum formicicum* 98%—100% p. a.
843 *Acidum gallotanicum anhydrum* pur (tanninum)
915 *Acidum hydrobromicum* D = 1,42 p. a.
926 A *Acidum hydrochloricum sine Arsen* D = 1,19 p. a.
929 *Acidum hydrochloricum* D = 1,17 — 1,19 pur
1 022 *Acidum lacticum* D = 1,21 p. a.
1 189 *Acidum nitricum* (—Cl, Pb) D = 1,42 p. a.
1 245 *Acidum osmicum solutio* 2% p. a.
1 251 +) *Acidum oxalicum cryst.* p. a. Stas 2 978-52
1 298 *Acidum perjodicum* p. a.
1 353 *Acidum phosphomolibdaenicum* p. a.
1 379 *Acidum phosphotungsticum* p. a.
1 397 *Acidum picricum* p. a.
1 424 *Acidum pyrogallicum resublimat* p. a.
1 454 +) *Acidum salycilicum* p. a. N.I.R.
1 609 *Acidum trichloraceticum* p. a.
1 774 *Aether aethylicus anh.* p. a.
2 334 +) *Alcohol aethylicus* 90° pt. a. N.I.R.
2 335 a *Alcohol aethylicus absolutus purum*
2 336 +) *Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. N.I.R.
2 417 *Alcohol methylicus* p. a.
2 602 +) *Alumen amoniacale* pt. a. N.I.R.
2 635 +) *Aluminium chloratum cryst.* pt. a. N.I.R.
2 747 +) *Aluminium sulfuricum* pt. a. N.I.R.
2 882 *Ammonia liquida purum*
3 006 *Ammonium molibdaenicum cryst. purum*
3 073 +) *Ammonium rhodanatum cryst.* pt. a. STAS 2 052-52 *(sulfocianatum)*

Scanned with OKEN Scanner

Cod :

3 103 +) *Ammonium sulfuricum* pt. a. STAS 2 663-51
3 277 *Anilinum* p. a.
3 431 *Argentum nitricum* p. a.
3 558 *Aurum chloratum solutio 2% purum*
3 732 *Balsamum canadense neutrale purum*
3 760 A *Barium chloratum* p. a.
3 937 *Benzolum* D = 0,879 p. a.
5 036 +) *Calcium chloratum* pt. a. STAS 2 310-51
5 105 +) *Calcium nitricum* pt. a. N.I.R.
5 228 *Carboanimalis pulvis puriss.*
5 318 *Celloidinum hystologicum purum*
5 352 *Cera flava purum*
5 505 *Chloratum hydricum* p. a.
5 563 a *Chloroformium* p. a.
5 666 *Chromium fluoratum oxydatum* p. a.
5 784 +) *Cobaltum nitricum oxydulatum* p. a. N.I.R.
5 837 *Collophonium purum*
5 921 +) *Cuprum aceticum oxydatum* pt. a. N.I.R.
6 031 *Cuprum sulfuricum anhydricum purum*
6 869 *Dioxanum* p. a.
7 619 a *Ferrum ammonium sulfuricum oxydatum* p. a.
7 646 *Ferrum chloratum oxydatum anhydricum* p. a.
7 809 *Formaldehydum* 40% p. a.
8 041 *Gelatina alba pulvis purum*
8 154 *Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.
8 271 *Gummi arabicum pulvis purum*
8 715 A *Hydrargyrum bichloratum cryst.* pur
8 716 A *Hydrargyrum bichloratum cryst.* p. a.
9 373 *Jodum metallicum purum*
9 509 *Kalium aluminium sulfuricum* p. a.
9 540 +) *Kalium bichromicum* 96—98% p. a. STAS 2260-51
9 541 +) *Kalium bichromicum chimic pur* STAS 2 260-51
9 590 *Kalium carbonicum hydricum* p. a.
9 599 a *Kalium chloratum cryst. purum*
9 639 *Kalium ferri cyanatum* p. a.
9 642 *Kalium ferro cyanatum* p. a.
9 672 *Kalium hydricum in rotulis* p. a.
9 695 b *Kalium iodatum* p. a.
9 709 *Kalium meta bisulfurosum* p. a.
9 767 *Kalium permanganicum* p. a.
9 786 *Kalium phosphoricum monobasicum* p. a.
9 788 b *Kalium phosphoricum monobasicum anhydricum purum*
9 934 *Kreosotum purum*
10 310 *Liquor natrii caustici* (-N) D = 1,23 p. a.
10 332 *Lithium carbonicum pulvis* p. a.
10 384 *Lugolum solutio* p. a.
10 385 *Lugolum solutio pro mikroskopie purum*
10 624 A *Magnesium carbonicum* p. a.
10 741 A *Magnesium sulfuricum* p. a.

Scanned with OKEN Scanner

Cod :

11 637 *Natrium aceticum anhydricum* p. a.
11 743 +) *Natrium bicarbonicum* pt. a. STAS 4 818-55
11 782 *Natrium bisulfurosum cryst.* p. a.
11 783 *Natrium bisulfurosum meta purum*
11 784 *Natrium bisulfurosum meta* p. a.
11 799 a *Natrium boracicum cryst.* p. a.
11 847 +) *Natrium carbonicum siccum* pt. a. STAS 1 200-51
11 860 A *Natrium chloratum cryst.* p. a.
11 900 +) *Natrium citricum tribasicum* chimic pur N.I.R.
11 920 5-5 *Natrium diaethylbarbituricum* p. a.
11 978 *Natrium glicerophosphoricum beta* p. a.
12 009 *Natrium hydricum in rotulis* p. a.
12 055 *Natrium jodicum* p. a.
12 165 *Natrium perboricum* p. a.
12 217 A *Natrium phosphoricum bibasicum* p. a.
12 367 *Natrium sulfurosum cryst.* p. a.
12 415 *Natrium thiosulfuricum* p. a.
13 320 *Oleum bergamotae* p. a.
13 322 *Oleum cajeputti purum*
13 328 *Oleum cedri spissum pro optica purum*
13 338 *Oleum origani purum*
13 341 *Oleum paraffini* p. a.
13 357 *Orceinum purum*
13 676 *Paraffinum hystologicum* 50—52° *purum*
14 216 +) *Plumbum nitricum* pt. a. N.I.R.
14 376 *Pyridinum purum*
14 730 *Resorcinum resublimatum* p. a.
16 136 *Toluolum purum*
16 138 *Toluolum* p. a.
16 422 *Uranium nitricum* p. a.
16 441 *Urea puriss.*
16 974 *Xilolum* (-thyophen) *purum*
18 494 *Natrium hydricum* N/1
18 616 *Acidum grün (verde de methyl)*
18 632 *Acidum rubin (Fuchsin S, Fuchsin acid, Anilin, Rubin S)*
18 654 *Alizarin blau acidum*
18 752 *Anilin blau alcohol solubile*
18 754 *Anilin blau aqua solubile*
18 928 *Berliner blau*
18 954 *Brazilinum*
18 990 *Brillant schwartz*
19 053 *Carmin alaun Grenacher*
19 061 *Carmin Grübler*
19 065 *Carminum lithium*
19 067 *Carminum Mayer*
19 072 *Carminum*
19 076 *Carminum rubrum optimum*
19 162 *Congo rot*
19 412 *Eosin*

Scanned with OKEN Scanner

Cod :	
19 430	*Eosin bläulich*
19 435	*Eosin blau spiritus solubile*
19 439	*Eosin gelb aqua solubile Y.S.*
19 441	*Eosin gelblich*
19 452	*Eosin methylen blau*
19 532	*Fuchsin diamant*
19 626	*Fuchsin basicum*
19 714	*Genţiana violet*
10 716	*Genţiana violet solutio alcoholum*
19 724	*Giemsa—Romanovschi*
19 728 +)	*Giemsa Azur II solutio*
19 745	*Hematoxylinum purum*
19 764	*Hemalaun Mayer*
19 765	*Hemalaun*
19 768	*Hemateinum purum*
19 800	*Indigo carmin*
19 852	*Jod grün*
19 857	*Kernecht rot pro mikroskopie*
20 014	*Lauth violet (Thionin)*
20 021	*Licht grün S*
20 064	*Methanyl gelb*
20 068	*Methyl blau*
20 074	*Methyl blau Grübler*
20 120	*Methylen blau*
20 136	*Methylen blau polichrom (Unna)*
20 150	*Muccicarminum*
20 234	*Nillblau*
20 378	*Orange G*
20 534	*Polichrom methylen blau*
20 540	*Ponceau fuchsin*
20 550	*Ponceau 4 R (Ponceau xylidin)*
20 554	*Ponceau S*
20 570	*Pycro indigo carminum*
20 574	*Pycrofuchsin van Gieson*
20 588	*Pyronin G*
20 594	*Resorcin blau*
20 706	*Safraninum T.*
20 716	*Scharlach R.*
20 740	*Solutio Giemsa*
20 756	*Sudan III*
20 872	*Toluidin blau*
20 874	*Toluilen rot*
20 906	*Turnbull blau*
20 934	*Vesuvin*
21 452	*Oleum cinamomi cassiae R.I.*

Scanned with OKEN Scanner

INDICATORUL UNOR FORMULE ŞI INDEXUL ALFABETIC DE REACTIVI CARE SE FOLOSESC ÎN ANALIZELE MEDICO-JUDICIARE

FORMULE

I. DIAGNOSTICUL MEDICO-JUDICIAR AL PETELOR DE SÎNGE

1. Punerea în evidenţă a sîngelui

a) *Metoda Bertrand*

Cod 139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	20 ml
Cod 8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.	5 ml
Cod 10 627 +)	*Magnesium chloratum cryst.* p. a. . .	1 g

b) *Metoda de punere în evidenţă a peroxidazelor din sînge*

Cod 139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	15 ml
Cod 3 895	*Benzidinum* p. a.	5 g
Cod 6 733	*Dimethylanilinum* p. a.	0,10 g
Cod 8 859	*Hydrogenium peroxydatum* 30% p. a. .	5 ml
Cod 9 670	*Kalium hydricum in rotulis purum* . .	5 g
Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum cryst.* chimic pur	1 g
Cod 17 340	*Zincum metallicum pulvis* p. a. . . .	5 g
Cod 20 482	*Phenolphtaleinum*	0,50 g

2. Diagnosticul originii (speciei) petelor de sînge

Metoda Cistovici Uhlenhuth (metodă biologică)

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum cryst.* chimic pur	1 g
	Ser precipitat antiom a 1 ml . . .	30 fiole

3. Determinarea grupei sanguine din petele de sînge

Metoda Lendsteiner—Richter modificată de Lattes

Cod 11 860 +)	*Natrium chloratum cryst.* chimic pur	1 g

Scanned with OKEN Scanner

4. Locul de proveniență al petelor de sînge

Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	10 ml
Cod 12 055	*Natrium iodicum* p. a.	0,30 g
Cod 19 435	*Eosin blau spiritus solubile*	1 g
Cod 19 439	*Eosin gelb aqua solubile*	1 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	1 g
Cod 20 378	*Orange G* . . . . . ,	0,25 g

II. EXAMENUL PETELOR DE SPERMĂ

1. Reacția Florence

Cod 9 373	*Jodum metallicum purum*	2,54 g
Cod 9 695 b	*Kalium iodatum* p. a.	1,56 g

2. Examenul de frotiuri colorate

(Hematoxylină-eosină)

Cod 2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	10 ml
Cod 12 055	*Natrium iodicum* p. a.	0,30 g
Cod 19 435	*Eosin blau spiritus solubile*	1 g
Cod 19 439	*Eosin gelb aqua solubile*	1 g
Cod 19 745	*Hematoxylinum purum*	1 g
Cod 20 378	*Orange G* . . . . . ,	0,25 g

Scanned with OKEN Scanner

INDEX

Cod :

139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. STAS 1 409-50
2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. N.I.R.
3 895	*Benzidinum* p. a.
6 733	*Dimethylanilinum* p. a.
8 154	*Glycerinum neutrale anhydricum* p. a.
8 859	*Hydrogenium peroxydatum* 30% p. a.
9 373	*Jodum metallicum purum*
9 670	*Kalium hydricum in rotulis purum*
9 695 b	*Kalium iodatum* p. a.
10 627 +)	*Magnesium chloratum cryst.* p. a. N.I.R.
11 860 +)	*Natrium chloratum cryst.* chimic pur STAS 1326-51
12 055	*Natrium iodicum* p. a.
17 340	*Zincum metallicum pulvis* p. a.
19 435	*Eosin blau spiritus solubile*
19 439	*Eosin gelb aqua solubile Y.S.*
19 745	*Hematoxylinum purum*
20 082	*Methyl grün pyronin Pappenheim*
20 378	*Orange G*
20 482	*Phenolphtaleinum*

Scanned with OKEN Scanner

INDICATORUL UNOR FORMULE ŞI INDEXUL ALFABETIC DE REACTIVI CARE SE FOLOSESC ÎN CONTROLUL SANITAR AL ALIMENTELOR, BĂUTURILOR ŞI AERULUI

FORMULE

I. CONTROLUL SANITAR AL ALIMENTELOR ŞI BĂUTURILOR

A. Controlul sanitar al apei potabile

1. Examene bacteriologice

a) *Determinarea numărului de germeni*

Geloză simplă 2%	1 000 g
Mediul Lévine	3 000 g
Bulion lactozat cu tub de fermentaţie	3 000 ml

2. Examene chimice de control

a) *Determinarea amoniacului*

Cod 2 945	*Ammonium chloratum anhydricum* p. a.	1 g
Cod 9 672	*Kalium hydricum in rotulis* p. a. . .	2 g
Cod 9 732 +)	*Kalium natrium tartaricum* p. a. . . .	392 g
Cod 12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	1 g
Cod 20 212	*Nessler reagent*	500 ml

b) *Determinarea azotaţilor*

Cod 580	*Acidum carbolicum cryst.* purum . .	120 g
Cod 1 518	*Acidum sulfuricum* (-N) D = 1,83 p. a.	500 ml
Cod 2 883	*Ammmonia liquida* p. a.	1 000 ml
Cod 9 736 +)	*Kalium nitricum* p. a.	2 g

Scanned with OKEN Scanner

c) *Determinarea azotiţilor*

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	500 ml
Cod	242 a	*Acidum amino benzolsulfonicum para* p. a.	6 g
Cod	11 588	*α-naphtylaminum* p. a.	3 g
Cod	12 116 +)	*Natrium nitricum* p. a.	150 g

d) *Determinarea clorurilor*

(Metoda cu cromat de potasiu)

Cod	1 518	*Acidum sulfuricum* D = 1,83 (-N) p. a.	100 ml
Cod	3 431	*Argentum nitricum* p. a.	100 g
Cod	9 614	*Kalium chromicum* p. a.	10 g
Cod	9 672	*Kalium hydricum in rotulis* p. a. . .	10 g

e) *Determinarea durităţii*

Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D = 1,19 p. a.	100 ml
Cod	11 847 +)	*Natrium carbonicum siccum* pt. a. . .	100 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	100 g
Cod	20 370	*Orange III*	0,1 g

f) *Determinarea substanţelor organice*

Cod	1 249	*Acidum oxalicum* p. a.	100 g
Cod	1 518	*Acidum sulfuricum* D = 1,83 (-N) p. a.	100 g
Cod	9 767	*Kalium permanganicum* p. a.	316 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	100 g

B. Controlul sanitar al alimentelor

Analiza cărnii şi a derivatelor de carne

Examen chimic de control

Identificarea amoniacului (Nessler)

Cod	8 716 A	*Hydrargyrum bichloratum cryst.* p. a.	3 g
Cod	9 672	*Kalium hydricum in rotulis* p. a. . .	15 g
Cod	9 695 b	*Kalium iodatum* p. a.	5 g

Identificarea hidrogenului sulfurat

Cod	14 146 +)	*Plumbum aceticum* pt. a.	10 g

Identificarea peroxidazei

Cod	3 895	*Bensidinum* p. a.	0,50 g
		Apă oxigenată	300 ml

Scanned with OKEN Scanner

Analiza derivatelor de carne

Determinarea azotiților

Cod 139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	500 ml
Cod 242 a	*Acidum amino benzolsulfonicum para* p. a.	3 g
Cod 11 588	*α-naphtylaminum* p. a.	3 g
Cod 12 116 +)	*Natrium nitricum* p. a.	150 g

Analiza peștelui și preparatelor de pește

Determinarea amoniacului

Cod 10 714	*Magnesium oxydatum pulvis* p. a. . .	200 g
Cod 18 106	*Acidum sulfuricum* N/10	1 000 ml
Cod 20 092	*Methyl rot cryst.*	0,20 g

Analiza laptelui și a derivatelor

Examenul bacteriologic

Cod 13 752	*Peptonum purum*	100 g
Cod 15 010	*Sacharum lactis* p. a.	100 g
Cod 19 714	*Gentiana violet*	0,40 g
	Geloză simplă 2%	15 000 g
	Mediul Kessler	10 000 ml

Probe biochimice de prospețime

Proba reductazei

Cod 20 120	*Methylen blau*	1 g

Reacția Kreis (pentru unt)

Cod 38	*Acetonum* pt. a.	100 ml
Cod 1 518	*Acidum sulfuricum* D = 1,83 (-N) p. a.	200 ml
Cod 13 991	*Phloroglucinum* p. a.	1 g

Controlul pasteurizării

Determinarea fosfatazei

Cod 580	*Acidum carbolicum cryst.* purum . .	1 g
Cod 5 563 a	*Chloroformium* p. a.	200 ml
Cod 6 533	*2-6 Dibrom chinonum chlorimid* p. a.	0,4 g
Cod 11 741	*Natrium bicarbonicum* p. a.	140 g
Cod 11 847 +)	*Natrium carbonicum siccum* pt. a. . .	80 g
	Phenyl phosphat disodic	22 g

Scanned with OKEN Scanner

Analiza grăsimilor şi uleiurilor comestibile

Identificarea săpunului

Cod	931	*Acidum hydrochloricum* D = 1,19 p. a.	200 ml
Cod	2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	200 ml
Cod	19 011	*Brom phenol blau*	0,50 g
Cod	20 482	*Phenolphtaleinum*	1 g

Determinarea indicelui de peroxid

Cod	139	*Acidum aceticum glaciale* pt. a. . . .	400 ml
Cod	3 210 A	*Amylum solubile* p. a.	100 g
Cod	5 563 a	*Chloroformium* p. a.	200 ml
Cod	9 695 b	*Kalium iodatum* p. a.	200 g
Cod	12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.	10 g

Analiza făinii, pîinii şi pastelor făinoase

Determinarea acidităţii

Cod	2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. . .	5 000 ml
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	100 g
Cod	20 482	*Phenolphtaleinum*	1 g

Controlul băuturilor alcoolice

Determinarea alcoolilor superiori

Cod	13	*Acetaldehydum* p. a.	10 g
Cod	2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* p. a. . .	500 ml
Cod	2 348	*Alcohol amylicus* p. a.	10 ml
Cod	2 531	*Aldehydum salicylicum* p. a.	10 g

Determinarea alcoolului metilic

Cod	1 249	*Acidum oxalicum* p. a.	20 g
Cod	1 360	*Acidum ortophosphoricum* D = 1,17 p. a.	100 g
Cod	1 518	*Acidum sulfuricum* D=1,83 (-N) p. a.	300 ml
Cod	9 767	*Kalium permanganicum* p. a.	6 g
Cod	18 632	*Acidum rubin*	1 g

Determinarea substanţelor colorante artificiale

Cod	2 348	*Alcohol amylicus* p. a.	2 000 ml
Cod	2 883	*Ammonia liquida* p. a.	1 000 ml
Cod	9 510 +)	*Kalium aluminium sulfuricum* p. a. . .	200 g

II. CONTROLUL SANITAR AL AERULUI

A. Recoltarea şi analiza prafului din mediul aerian

Cercetarea bioxidului de siliciu

Cod	15 822	1-2-3-4 *Tetrahydro naphtalenum purum*	50 ml

Scanned with OKEN Scanner

B. Analiza chimică a aerului atmosferic

Determinarea bioxidului de sulf

Cod	931	*Acidum hidrochloricum* D=1,19 p. a. .	10 ml
Cod	9 600 +)	*Kalium chloratum cryst.* p. a.	1 g
Cod	9 863	*Kalium sulfurosum* p. a.	10 g

Determinarea clorului liber (Metoda nefelometrică-Kolicev)

Cod	1 193	*Acidum nitricum fumans* D = 1,52 p.a.	100 ml
Cod	3 431	*Argentum nitricum* p. a.	10 g
Cod	9 600 +)	*Kalium chloratum cryst.* p. a.	2 g

Determinarea hidrogenului sulfurat (Metoda Poleajev-Chirina-Laktionova)

Cod	447	*Acidum arsenicosum anhydricum* p. a.	0,20 g
Cod	1 518	*Acidum sulfuricum* D=1,83 (-N) p. a. .	10 g
Cod	2 938	*Ammonium carbonicum siccum* p. a. .	5 g
Cod	3 431	*Argentum nitricum* p. a.	10 g
Cod	12 369	*Natrium sulfurosum siccum* p. a. . .	10 g

Determinarea oxizilor de azot (Metoda Poleajev)

Cod	242 a	*Acidum amino benzolsulfonicum para* pt. a.	10 g
Cod	9 695 b	*Kalium iodatum* p. a.	20 g
Cod	11 588	*α-naphtylaminum* p. a.	10 g
Cod	13 369	*Natrium sulfurosum siccum* p. a. . .	100 g

Determinarea sulfurii de carbon

Cod	2 336 +)	*Alcohol aethylicus absolutus* p. a. . .	1 000 ml
Cod	5 241 +)	*Carboneum sulfuratum* pt. a. . . .	100 ml
Cod	5 925 +)	*Cuprum aceticum basicum* p. a. . . .	100 g
Cod	6 388	*Diaethyl aminum* p. a.	3 g
Cod	12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a. . .	100 g
Cod	20 092	*Methyl rot cryst.*	1 g

Determinarea bioxidului de carbon (Metoda Petter-Koffer)

Cod	1 249	*Acidum oxalicum* p. a.	28 g
Cod	3 761 +)	*Barium chloratum* pt. a.	20 g
Cod	3 783	*Barium hydricum* p. a.	100 g
Cod	20 482	*Phenolphtaleinum*	1 g

Scanned with OKEN Scanner

INDEX

Cod :

13 *Acetaldehydum* p. a.
38 *Acetonum* pt. a. N.I.R.
139 *Acidum aceticum glaciale* pt. a. STAS 1 409-50
242 +) *Acidum amino benzolsulfonicum* para pt. a. STAS 4 466-54
447 *Acidum arsenicosum anh.* p. a.
580 *Acidum carbolicum cryst. purum*
931 *Acidum hydrochloricum* D=1,19 p. a.
1 193 *Acidum nitricum fumans* D=1,52 p. a.
1 249 *Acidum oxalicum* p. a.
1 360 *Acidum orto-phosphoricum* D=1,17 p. a.
1 518 *Acidum sulfuricum* D=1,83 (-N) p. a.
2 336 +) *Alcohol aethylicus absolutus* pt. a. N.I.R.
2 348 *Alcohol amylicus* p. a.
2 531 *Aldehydum salicylicum* p. a.
2 883 *Ammonia liquida* p. a.
2 938 *Ammonium carbonicum siccum* p. a.
2 945 *Ammonium chloratum anh.* p. a.
3 210 A *Amylum solubile* p. a.
3 431 *Argentum nitricum* p. a.
3 761 +) *Barium chloratum* pt. a. STAS 1 610-51
3 783 *Barium hydricum* p. a.
3 895 *Benzidinum* p. a.
5 241 +) *Carboneum sulfuratum* pt. a. N.I.R.
5 563 a *Chloroformium* pt. a. N.I.R.
5 925 +) *Cuprum aceticum basicum* pt. a. N.I.R.
6 388 *Diethyl aminum* p. a.
6 533 *2-6-Dibrom chinonum chlorimid* p. a.
8 716 A *Hydrargyrum bichloratum cryst.* p. a.
8 859 *Hydrogenium peroxydatum* 30% p. a.
9 510 +) *Kalium aluminium sulfuricum* p. a. N.I.R.
9 600 +) *Kalium chloratum cryst.* p. a. STAS 3 133-52
9 614 *Kalium chromicum* p. a.
9 672 *Kalium hydricum in rotulis* p. a.
9 695 b *Kalium iodatum* p. a.
9 732 +) *Kalium natrium tartaricum* p. a. STAS 1 609-52

Scanned with OKEN Scanner

Cod :

9 736 +)	*Kalium nitricum* p. a. STAS 1 943-54
9 767	*Kalium permanganicum* p. a.
9 863	*Kalium sulfurosum* p. a.
10 714	*Magnesium oxydatum pulvis* p. a.
11 588	*α-naphtylaminum* p. a.
11 741	*Natrium bicarbonicum* p a.
11 847 +)	*Natrium carbonicum siccum* pt. a. STAS 1 200-51
12 009	*Natrium hydricum in rotulis* p. a.
12 116 +)	*Natrium nitricum* p. a. STAS 2 194-51
12 369	*Natrium sulfurosum siccum* p. a.
12 415	*Natrium thiosulfuricum* p. a.
13 752	*Peptonum purum*
13 991	*Phloroglucinum* p. a.
14 146 +)	*Plumbum aceticum* pt. a. STAS 3 266-52
15 010	*Sacharum lactis* p. a.
18 106	*Acidum sulfuricum* N/10
18 632	*Acidum rubin*
19 011	*Brom phenol blau*
19 714	*Gențiana violet*
20 092	*Methyl rot cryst.*
20 120	*Methylen blau*
20 482	*Phenolphtaleinum*
20 212	*Nessler reagent*
20 370	*Orange III (Methyl orange)*

Scanned with OKEN Scanner

KAUFFMANN F. — *Enterobacteriaceae*, Copenhaga, 1954.
KERNBACH M. — Medicină judiciară, Ed. medicală, București, 1958.
KONDI V., POPESCU R. E. — Transfuzia de sînge, Ed. medicală, București, 1956.
LANGERON M. — Précis de microscopie, Ed. Masson, Paris, 1959.
LEBEDEVA N. M. — Manual practic de microbiologie, Ed. de Stat, București, 1948.
MANTA I., CIPLEA AL. — Metodele laboratorului clinic, Ed. Cartea Romînească, Cluj, 1947.
MAC MANUS J. F. A., MOWIY R. W. — Gurred methods of analitical histology and histochemistry, Ed. Churchill, Londra 1958.
MAC MANUS J. F. A., MOWIY R. W. — *Rev. Meth. Hist. and. histochim.*, 1960, nr. 9, p. 424.
MECINIKOV I. — Opere complete, Ed. Acad. R.P.R., București, 1953.
MESROBEANU L. — Mediile de cultură, Ed. medicală, București, 1961.
MIHĂILESCU M., THEODORESCU AL. — Tehnica transfuziei, Ed. medicală, București, 1958.
MOȚOC FL. — *Morf. norm. și patol. (București)*, 1963, nr. 1, p. 77.
NESTORESCU N. și colab. — Bacteriologie medicală, Ed. medicală, București, 1962.
NESTORESCU N., POPOVICI M. — Toxiinfecțiile alimentare, Ed. medicală, București, 1959.
NICOLAU GH. ȘT. și colab. — Dermatologie și venerologie, Ed. medicală, București, 1958.
NICOLAU GH., DĂNILĂ P. — Serologia sifilisului, Ed. medicală, București, 1958.
NICOLAU T. C. și colab. — Hematologie, Ed. medicală, București, 1959.
PĂUNESCU-PODEANU A. și colab. — Ghid de date biologice normale și patologice, Ed. medicală, București, 1962.
PEARSE E. A. G. — Histochemistry teoretical and applical, Ed. Churchill, Londra, 1961.
PEASE D. C. — Histological technics for electronmicroscopy, Acad. Presse, 1960, nr. 7, Londra.
POLICARD D. și colab. — Traité de microscopie. Instruments et techniques. Ed. Masson, Paris, 1957.
POPA I. — *Farmacia (București)*, 1956, nr. 2, p. 147.
POPA I. — *Farmacia (București)*, 1957, nr. 2, p. 136.
POPA I., POPPA C. — Doc. hem. și transf. IV, pag. 209, Ed. medicală, București, 1960.
POPESCU R. E. — Leucemiile, Ed. medicală, București, 1963.
POPESCU R. E. — Fiziopatologia fierului. Anemiile hipocrome, Ed. medicală, București, 1958.
POPPA C. — Heparina. Centr. de Doc. M.I.P. Ch., Ed. Biofarm., București, 1961.
POPPA C., ENACHE FL. — Doc. de hem. și transf. III, p. 129, Ed. medicală, 1960.
PREDTAECENSKI V. E. și colab. — Metode de laborator clinic, Ed. de Stat, București, 1952.
PREVOT R. — Clasification microbienne, Ed. Masson, Paris, 1961.
ROMAN L. — Coagularea și investigația celulei hepatice, Ed. medicală, București, 1956.
ROSCHIN G., BELICEVA L. — *Morf. norm. și patol. (București)*, 1963, nr. 1, p. 73.
SCHILLING V. — Praktische Blutlehre, ed. a 16-a, Jena, 1960.
SIMIONESCU N. — *Morf. norm. și patol. (București)*, 1963, nr. 3, p. 285.
STĂNCIULESCU P. — *Bul. anat. pat.*, 1954, nr. 1, p. 30.
STĂNCIULESCU P. — *Bul. anat. pat.*, 1954, nr. 2, p. 54.
STRAUS HUGO — Lucrări practice de igienă generală și comunală, Ed. medicală, București, 1957.
TĂNĂSESCU GH., COSTESCU GH. — Chimie biologică medicală, Lucrări practice, Ed. I.M.F., București, 1962.

Scanned with OKEN Scanner

Scanned with OKEN Scanner

TABLA DE MATERII

Pag.

Cuvînt înainte 5

Capitolul I

Planificarea aprovizionării laboratoarelor de analize medicale cu reactivi . 9

Capitolul al II-lea

Examene biochimice 13

Capitolul al III-lea

Examene bacteriologice 105

Capitolul al IV-lea

Examene hematologice 225

Capitolul al V-lea

Examene parazitologice și micologice 287

Capitolul al VI-lea

Examene histopatologice 311

Capitolul al VII-lea

Examene medico-judiciare 403

Capitolul al VIII-lea

Controlul sanitar al alimentelor, băuturilor și aerului 411

Capitolul al IX-lea

Pag.

Indicatorul unor formule şi indexul alfabetic de reactivi 439
Indicatorul unor formule şi indexul alfabetic de reactivi care se folosesc în analizele biochimice 441
Indicatorul unor formule şi indexul alfabetic de reactivi care se folosesc în analizele bacteriologice 469
Indicatorul unor formule şi indexul alfabetic de reactivi care se folosesc în analizele hematologice 505
Indicatorul unor formule şi indexul alfabetic de reactivi care se folosesc în analizele parazitologice şi micologice 519
Indicatorul unor formule şi indexul alfabetic de reactivi care se folosesc în analizele de histopatologie 527
Indicatorul unor formule şi indexul alfabetic de reactivi care se folosesc în analizele medico-judiciare 553
Indicatorul unor formule şi indexul alfabetic de reactivi care se folosesc în controlul sanitar al alimentelor, băuturilor şi aerului 557
Bibliografie 565

Redactor responsabil: dr. N. Popovici
Tehnoredactor: Afilipoaiei Elena

Dat la cules: 26.06.1964 Bun de tipar 30.11.1964 Apărut: 1965. Tiraj: 3000+45 ex. legate Hîrtie: velină de 63 g/m² Format 700×1000/16. Coli editoriale 29,53. Coli de tipar: 35,75. A.: 9419/1964. C. Z. pentru bibliotecile mari 616.074 C. Z. pentru bibliotecile mici 616.074

Tiparul executat la Întreprinderea Poligrafică „Grafica nouă" str. Pitagora nr 16-18. București, R.P.R. Comanda 2246

Scanned with OKEN Scanner